

Aus der Klinik für Dermatologie und Allergologie
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. M. Hertl

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg
in Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Gießen und Marburg GmbH,
Standort Marburg

Evaluierung der Krankheitsaktivität von Pemphigus-Patienten mittels des Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Scores

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Humanmedizin
Dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von
Anne Müllers
aus Bonn

Marburg 2010

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
am: 25.02.2010.

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches.

Dekan: Prof. Dr. med. Rothmund
Referent: Prof. Dr. med. Hertl
1. Korreferent: Prof. Dr. med. Rompel

Für meine Eltern

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	VI
1 Einleitung	7
1.1 Das Hautorgan	7
1.1.1 Funktion	7
1.1.2 Aufbau	8
1.1.2.1 Epidermis	9
1.1.2.2 Dermis	10
1.1.2.3 Dermoepidermale Junktionszone	10
1.1.2.4 Desmosomen	11
1.2 Das Immunsystem	13
1.2.1 Das angeborene Immunsystem	14
1.2.2 Das erworbene Immunsystem	14
1.2.3 Autoimmunität	19
1.3 Pemphigus-Erkrankung	21
1.3.1 Pemphigus vulgaris	22
1.3.2 Pemphigus foliaceus	31
1.4 Ziel dieser Arbeit	33
2 Patienten und Methoden	35
2.1 Aufbau der Studie	35
2.2 Patienten	35
2.3 Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score	36
2.3.1 Haut-Score	37
2.3.2 Mundschleimhaut-Score	39
2.3.2.1 Mundschleimhaut-I-Score	39
2.3.2.2 Mundschleimhaut-II-Score	40
2.4 Autoantikörper (ELISA-Diagnostik)	41
2.5 Prednisolonäquivalent	41
2.6 Statistik	42
3 Ergebnisse	43
3.1 Klinische und serologische Charakterisierung des Patientenkollektivs	43
3.2 Darstellung der einzelnen Parameter	45
3.2.1 ABSIS: Haut- Score	45
3.2.2 ABSIS: Mundschleimhaut- Scores	46
3.2.3 Autoantikörper	47
3.2.4 Prednisolonäquivalent	49
3.3 Individuelle Patientenverläufe	50
3.3.1 Beispiele für parallele Verläufe von ABSIS-Parametern und Autoantikörpertitern	51
3.3.2 Beispiele für persistierende Autoantikörper trotz klinischer Remission	53

3.4 Zusammenhänge der ABSIS-Parameter mit den Autoantikörpern und dem Prednisolonäquivalent	54
4 Diskussion	63
4.1 Anforderungen an ein Score-System.....	64
4.2 Bisher angewandte Scores beim Pemphigus.....	65
4.3 Praktikabilität des ABSIS	68
4.4 Problem des fehlenden Standards.....	70
4.5 Vergleich der ABSIS-Parameter mit den Autoantikörpern und dem Prednisolonäquivalent	70
4.6 Beurteilung des ABSIS.....	74
5 Zusammenfassung	76
Literaturverzeichnis	78
Verzeichnis der akademischen Lehrer	89
Danksagung.....	90
Ehrenwörtliche Erklärung	91

Abkürzungsverzeichnis

ABSIS	Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score
ACh	Acetylcholin
ANA	Antinukleäre Antikörper
APZ	Antigenpräsentierende Zellen
AS	Aminosäuren
CD	cluster of differentiation (Differenzierungsmerkmal)
d	day (Tag)
DIF	direkte Immunfluoreszenz
DNA	desoxyribonucleid acid (Desoxyribonukleinsäure)
Dsc	Desmocollin
Dsg	Desmoglein
EC	extrazelluläre Domäne
ELISA	Enzyme-linked-immunsorbent-assay
F _{ab}	fragment antigen binding
F _c	fragment crystallizable
HLA	Humanes Leukozytenantigen
IA	Immunadsorption
Ig	Immunglobulin
IIF	indirekte Immunfluoreszenz
IL	Interleukin
IVIG	intravenöse Immunglobuline
kDa	Kilodalton
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
mg	Milligramm
MMF	Mycophenolatmofetil
MHC	major histocompatibility complex (Haupthistokompatibilitätskomplex)
Mio	Million
MSH	Mundschleimhaut
OD	optische Dichte
PAAS	Pemphigus Area and Severity Score
PASI	Psoriasis Area and Severity Index

PDAI	pemphigus disease area index
PIV	Protein Index Value
PF	Pemphigus foliaceus
PGA	Physician´s Global Assessment
PV	Pemphigus vulgaris
T _h	T-Helfer
TGF	tumor growth factor
T _{reg}	regulatorische T-Zellen
TZR	T-Zell-Rezeptor

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1.:	Aufbau der Kutis	8
Abb. 1.2.:	Aufbau der dermoepidermalen Junktionszone mit Ebenen der Blasenbildung bei bullösen Dermatosen	11
Abb. 1.3.:	Aufbau eines Desmosoms	12
Abb. 1.4.:	Darstellung der Antigenpräsentation	17
Abb. 1.5.:	Antikörperaufbau	19
Abb. 1.6.:	Expression von Desmoglein1 und 3	25
Abb. 1.7.:	Typische Mundschleimhautbefunde beim Pemphigus vulgaris	27
Abb. 1.8.:	Typischer Hautbefund beim Pemphigus vulgaris	28
Abb. 1.9.:	Histologie (A) und direkte Immunfluoreszenz (B) beim Pemphigus vulgaris	29
Abb. 1.10.:	Histologie (A) und direkte Immunfluoreszenz (B) beim Pemphigus foliaceus	33
Abb. 2.1.:	Darstellung der Abschätzung der betroffenen Hautareale anhand der 9-er Regel	38
Abb. 2.2.:	Beispiel eines ABSIS-Haut-Score-Wertes	39
Abb. 3.1.:	ABSIS-Haut-Score im Zeitverlauf	45
Abb. 3.2.:	ABSIS-MSH-I-Score im Zeitverlauf	47
Abb. 3.3.:	ABSIS-MSH-II-Score im Zeitverlauf	47
Abb. 3.4.:	Anti-Dsg1-IgG im Zeitverlauf	48
Abb. 3.5.:	Anti-Dsg3-IgG im Zeitverlauf	48
Abb. 3.6.:	Prednisolonäquivalent im Zeitverlauf	50
Abb. 3.7.:	Verlauf ABSIS-MSH-Scores/Anti-Dsg3-IgG bei Patient 1.....	51
Abb. 3.8.:	Verlauf ABSIS-Haut-Score/Anti-Dsg1-IgG bei Patient 1	52
Abb. 3.9.:	Verlauf ABSIS-MSH-Scores/Anti-Dsg3-IgG bei Patient 2	52
Abb. 3.10.:	Verlauf ABSIS-MSH-Scores/Anti-Dsg3-IgG bei Patient 17	53
Abb. 3.11.:	Verlauf ABSIS-MSH-Scores/Anti-Dsg3-IgG bei Patient 21	54
Abb. 3.12.:	Korrelation ABSIS-Haut-Score/Anti-Dsg1-IgG	55
Abb. 3.13.:	Korrelation ABSIS-MSH-I-Score/Anti-Dsg3-IgG	56
Abb. 3.14.:	Korrelation ABSIS-MSH-II-Score/Anti-Dsg3-IgG	57
Abb. 3.15.:	Korrelation der beiden ABSIS-MSH-Scores	58
Abb. 3.16.:	Korrelation ABSIS-Haut-Score/ Prednisolonäquivalent	58
Abb. 3.17.:	Korrelation ABSIS-MSH-I-Score/Prednisolonäquivalent	59
Abb. 3.18.:	Korrelation ABSIS-MSH-II-Score/Prednisolonäquivalent	59
Abb. 3.19.:	Korrelation ABSIS-MSH-II-Werte/Prednisolonäquivalent für Patienten mit positivem MSH-II-Score	60
Abb. 3.20.:	Korrelation ABSIS-Haut-Score/Prednisolonäquivalent für Patienten mit mukokutanem Pemphigus	60
Abb. 3.21.:	Korrelation ABSIS-MSH-I-Score/Prednisolonäquivalent für Patienten mit mukokutanem Pemphigus	61
Abb. 3.22.:	Korrelation ABSIS-MSH-II-Score/Prednisolonäquivalent für Patienten mit mukokutanem Pemphigus	61

Tabellenverzeichnis

Tab. 1.1.: Klassifikation der bullösen Autoimmundermatosen	22
Tab. 2.1: Mundschleimhaut-II-Score	41
Tab. 3.1.: Übersicht des Patientenkollektivs	43
Tab. 3.2.: Detaillierte Darstellung der individuellen Patientendaten	44
Tab. 3.3.: Anzahl der Patienten an den jeweiligen Zeitpunkten	44
Tab. 3.4.: Subgruppenanalyse der Anti-Dsg3-IgG im Zeitverlauf	49
Tab. 4.1.: Beispiel für die individuell unterschiedliche Höhe der Anti-Dsg3-IgG	71
Tab. 4.2.: Beispiel für die individuell unterschiedliche Höhe der Anti-Dsg-1-IgG.....	72
Tab. 4.3.: Verlauf der Werte von Patient 17 als repräsentatives Beispiel für persistierende Anti-Dsg3-IgG.....	72

1 Einleitung

1.1 Das Hautorgan

Die Haut ist das größte menschliche Organ mit einer Gesamtfläche von ca. 1,2 - 2,3 m² (Junqueira et al, 2005). Sie hat als Grenze zwischen Organismus und Umwelt wichtige Barrierefunktionen und immunologische Aufgaben, ist aber auch bedeutend für die Kontaktaufnahme und Interaktion mit anderen Menschen. Die Haut besteht aus zwei Schichten, der Epidermis und der Dermis, wobei sich die Epidermis aus dem Ektoderm ableitet und die Dermis mit ihren Hautanhangsgebilden mesodermalen Ursprungs ist. Unterhalb der Dermis befindet sich die ebenfalls vom Mesoderm abstammende Subkutis, die funktionell mit Epidermis und Dermis interagiert und eine Verbindung zu den darunter liegenden Geweben herstellt. Die Subkutis wird aber per definitionem nicht dem Hautorgan zugeordnet.

1.1.1 Funktion

Die Haut übt vielfältige Funktionen aus. In erster Linie stellt sie eine Grenzschrift des menschlichen Organismus gegenüber der Außenwelt dar, die ihn vor Strahlen, chemischen und thermischen Reizen, sowie vor Krankheitserregern schützt. Hierzu dienen u.a. ein schützender Hydrolipidfilm mit einem pH-Wert von 5,5 („Säureschutzmantel“) und antimikrobielle Substanzen, das Stratum corneum der Epidermis als wesentlicher Bestandteil der mechanischen Barriere, das subkutane Fettgewebe als hauptsächliche Isolationsschicht, zusammen mit weiteren Temperaturregelungen wie Durchblutung und Schweißdrüsensekretion, und die Absorption und Reflektion von UV-Strahlung (Rassner, 2007).

Daneben bietet die Haut auch immunologischen Schutz, der auf zellulärer Ebene durch Langerhans-Zellen, Makrophagen, Mastzellen und Lymphozyten in der Epidermis und Dermis gewährleistet wird. Neben dem Schutz des Organismus vor der Außenwelt ist der Schutz des Organismus nach außen ebenso wichtig. Die Haut verhindert einen unkontrollierten Wasser-, Elektrolyt- und Wärmeaustausch bzw. -verlust. Die Lamellenkörper der Epidermis dichten mit ihren Lipiden die Haut nach außen ab, so dass sie wasserundurchlässig und

vor Austrocknung geschützt ist. Die Wasserverdunstung würde ohne Epidermis bei ca. 20 l/ Tag liegen (Jung und Moll, 2003). Großflächige Substanzdefekte der Haut können dementsprechend lebensbedrohlich sein.

Mit Hilfe von Sinnesorganen wie den Merkel-Zellen in der Epidermis, freien Nervenendigungen und Meissner-Tastkörperchen der Dermis und Vater-Pacini-Körperchen der Subkutis erfassen wir die Umwelt und interagieren mit ihr.

Die Haut ist ein wichtiges Kommunikationsmittel nach außen („Haut als Spiegelbild der Seele“) und häufig auch Ausdruck innerer Erkrankungen. Erkrankungen der Haut haben dementsprechend häufig eine psychosoziale Komponente.

1.1.2 Aufbau

Die Haut besteht aus der Epidermis (Oberhaut), die wiederum aus 4-5 Schichten besteht, und der Dermis (Korium, Lederhaut), die sich in zwei Schichten einteilen lässt (s. Abb. 1.1.). Epidermis und Dermis werden zusammen als Kutis bezeichnet, zwischen ihnen liegt die Basalmembran, an der die basalen Keratinozyten über Hemidesmosomen verankert sind. Das Gewebe unterhalb der Kutis wird als Subkutis bezeichnet und besteht aus Fettgewebe, das von lockerem Bindegewebe in Septen unterteilt wird und als Druckpolster und zur Wärmeisolation dient.

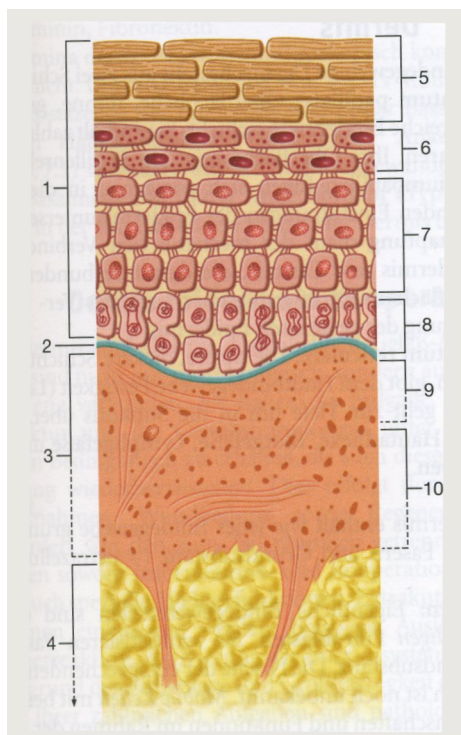


Abb. 1.1.: Aufbau der Kutis (aus Rassner, 2007)

- 1: Epidermis
- 2: Basalmembranzone
- 3: Dermis
- 4: Subkutis
- 5: Stratum corneum
- 6: Stratum granulosum
- 7: Stratum spinosum
- 8: Stratum basale
- 9: Stratum papillare
- 10: Stratum reticulare

1.1.2.1 Epidermis

Die Epidermis ist ein mehrschichtiges verhornendes Plattenepithel, das je nach Lokalisation eine Dicke von 0,4–0,6 mm an der Leistenhaut (palmopantar) und 75-150 µm an der Felderhaut erreichen kann (Welsch, 2006). Die Epidermis bildet an *Palmae* und *Plantae* individuell angeordnete haarlose Leisten („Leistenhaut“) aus, am übrigen Integument bildet die Epidermis Felder, dementsprechend „Felderhaut“. Die Epidermis besteht aus 4, an der Leistenhaut aus 5 Schichten. Die vorherrschende Zellart sind die Keratinozyten, die vom basalen *Stratum germinativum* bis zum *Stratum corneum* wandern. Diese Migration der Keratinozyten dauert in der Regel ca. 28 Tage. Neubildung und Abschilferung der Keratinozyten stehen in einem physiologischen Gleichgewicht. Neben den Keratinozyten sind andere Zellarten wie Melanozyten, Langerhans-Zellen und Merkel-Zellen vorwiegend in der basalen Epidermis vorhanden.

Das *Stratum basale*, auch als *Stratum germinativum* bezeichnet, liegt der Basallamina auf und basale Keratinozyten sind mit dieser über Hemidesmosomen verbunden. Hier teilen sich epidermale Stammzellen und bilden so neue Zellen, die von den benachbarten Melanozyten Melanin aufnehmen und Keratinfilamente produzieren. Die Keratinfilamente sind die intermediären Filamente des Zytoskeletts, sie gehen untereinander Verbindungen ein und werden so zu Dimeren und Tetrameren (Junqueira et al, 2005). Die Keratinozyten durchwandern nun das *Stratum spinosum*, in dem sie untereinander durch Desmosomen verbunden sind. Im *Stratum granulosum* lösen sich die Zellkerne und Zellorganellen auf und tragen in Form von mit Keratohyalin granula gefüllten Zellen zur Vernetzung bei, Lamellengranula setzen Lipide in den Interzellularraum frei und tragen damit zur Abdichtung bei. Schließlich enden die Keratinozyten im *Stratum corneum* als kernlose Zellreste, die als Barrierschutz der Haut dienen und dann abgestoßen werden. Das unterhalb des *Stratum corneum* liegende *Stratum lucidum* ist nur in der Leistenhaut gut zu erkennen.

1.1.2.2 Dermis

Die Dermis besteht hauptsächlich aus Bindegewebe, das der Haut mechanische Festigkeit verleiht. Sie bildet Papillen aus, die sich mittels Zapfen mit der Epidermis verbinden. In diesen Papillen befinden sich Blutkapillaren, die u.a. zur Ernährung der gefäßlosen Epidermis beitragen.

Das unterhalb der Epidermis gelegene *Stratum papillare* und das *Stratum reticulare* gehen ineinander über. Die Kollagenfasern, im Wesentlichen Kollagen I mit geringen Anteilen von Kollagen III, sind parallel zur Hautoberfläche ausgerichtet (Jung und Moll, 2003). Elastische Fasern ziehen vom *Stratum reticulare* zum *Stratum papillare* bis in die Basallamina. Diese Elastizität der Haut gewährleistet eine Anpassung an die Schwankungen des Körperumfanges. Daneben enthält die Dermis viele Makrophagen, Mastzellen, Blut- und Lymphgefäße, sowie die Haarfollikel, Schweiß- und Talgdrüsen, freie Nervenendigungen und Meissner-Tastkörperchen.

1.1.2.3 Dermoepidermale Junktionszone

Die dermoepidermale Junktionszone gewährleistet einerseits mechanische Festigkeit und Elastizität, ermöglicht aber auch den Austausch von Zellen und Stoffwechselprodukten zwischen Epidermis und Dermis (Braun-Falco et al, 2005). Die Basalmembran hat einen Durchmesser von 30-150 nm und besteht aus der Lamina lucida und der Lamina densa (Jung und Moll, 2003). Die unterhalb der Epidermis liegende Lamina lucida besteht hauptsächlich aus Glykoproteinen und ist über Ankerfilamente und hemidesmosomale Haftstrukturen mit den basalen Keratinozyten der Epidermis verbunden. Die Lamina densa ist über Ankerfibrillen aus Kollagen Typ VII an der Dermis befestigt, sie selber besteht zu großen Teilen aus Kollagen Typ IV (Rassner, 2007) (s. Abb. 1.2.)

hereditäre Blasenbildung

bullöse Autoimmundermatosen

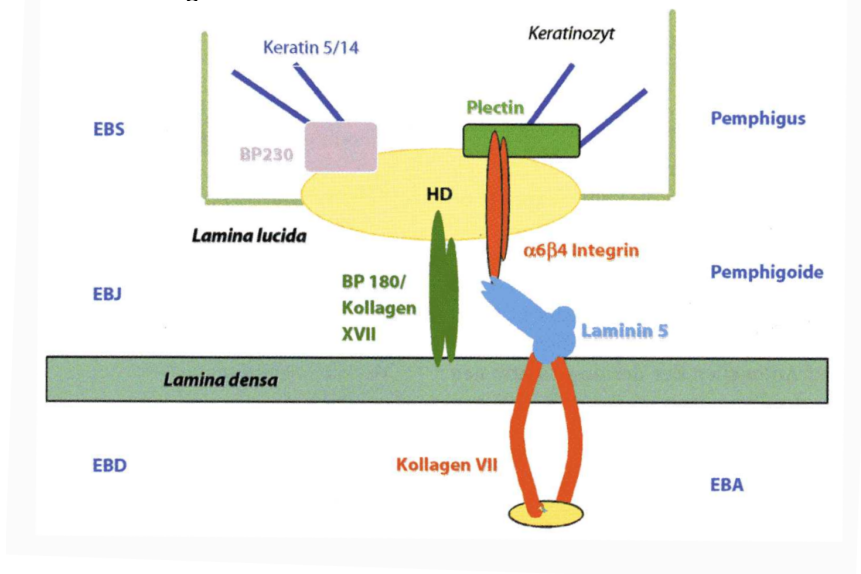


Abb. 1.2.: Aufbau der dermoepidermalen Junktionszone mit Ebenen der Blasenbildung bei bullösen Dermatosen (aus Braun-Falco et al, 2005).

Hemidesmosome (HD) verankern Keratinozyten in der Basalmembran, die aus Lamina lucida und densa besteht. Links: Ebenen der Blasenbildung bei hereditäre Erkrankungen: EBS = Epidermolysis bullosa simplex; EBJ = Epidermolysis bullosa junctionalis; EBD = Epidermolysis bullosa dystrophica. Rechts: Ebenen der Blasenbildung bei bullösen Autoimmundermatosen: EBA = Epidermolysis bullosa acquisita.

1.1.2.4 Desmosomen

Desmosomen (Maculae adhaerentes) sind Zell-Zell-Kontakte, die punktförmig, vermehrt in Epithelien, aber auch in Herzmuskelzellen und im Bereich der Arachnoidea vorkommen (Welsch, 2006). Die Verbindung zwischen den Zellen wird ermöglicht durch desmosomale kalziumabhängige Cadherine, die als transmembranöse Glykoproteine in den interzellulären Raum reichen, der ca. 20-40 nm beträgt (Amagai, 1995; Jung und Moll, 2003; Welsch, 2006). Intrazellulär bilden sich desmosomale Plaques aus Proteinen der Armadillo-Familie: Plakoglobin und Plakophilin und aus Proteinen der Plakinfamilie: Desmoplakin, Plectin, Envoplakin und Periplakin. Die Plaques bestehen aus einem äußeren dichtem (*outer denser plaque*), hier befinden sich mehr Proteine der Armadillo-Familie, und einem inneren weniger dichten Anteil (*less dense inner plaque*), der hauptsächlich aus Desmoplakin besteht (Huber, 2003). An die intrazellulären Plaques, vor allem an das Desmoplakin, binden Intermediärfilamente des Zytoskeletts, die dadurch an der Plasmamembran befestigt sind und zur mechanischen Stabilität benachbarter Keratinozyten beitragen.

(Amagai, 1995). Plakoglobin und Plakophilin binden sowohl an desmosomale Cadherine als auch an Desmoplakin und Intermediärfilamente. Fehlen die beiden Proteine der Armadillo-Familie scheinen Desmoplakine auch selber an Cadherine binden zu können (Huber, 2003). Den schematischen Aufbau eines Desmosomen zeigt Abb. 1.3.

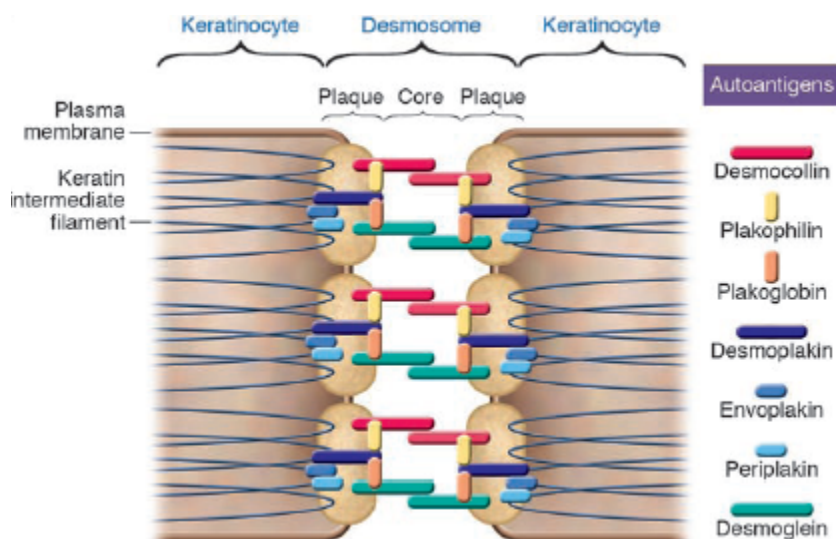


Abb. 1.3. Aufbau eines Desmosoms (aus Hertl et al, 2006).

Es gibt Hinweise darauf, dass die desmosomalen Plaqueproteine nicht nur Strukturfunktion, sondern möglicherweise auch eine regulatorische Funktion und eine Funktion in Signalprozessen haben (Huber, 2003). So scheint Plakoglobin Bestandteil eines bisher noch unbekannten Mechanismus zu sein, der die Größe von Desmosomen regelt (Huber, 2003).

Autoantikörper gegen Proteine der Plakinfamilie kommen neben Autoantikörpern gegen Plakoglobin und desmosomale Cadherine bei einer seltenen Variante des Pemphigus, dem paraneoplastischen Pemphigus vor (Huber, 2003; Moll et al, 1996).

Die Cadherine der Desmosomen sind auf Chromosom 18q12.1 kodiert, bislang sind 4 Isoformen der Desmogleine (Dsg), Dsg1-4, und drei Isoformen der Desmocolline (Dsc), Dsc1-3 bekannt (Amagai, 1995; Huber, 2003). Dsg4 wurde erst vor kurzem identifiziert, es spielt eine Rolle bei der Zelladhäsion, Proliferation und Differenzierung von epidermalen Keratinozyten und Haarfollikelkeratinozyten (Kljuic et al, 2003).

Dsg2 und Dsc2 kommen in allen Geweben vor, die Desmosome bilden (Sekiguchi et al, 2001), und zumindest Dsg2 scheint eine entscheidende Rolle bei der Bildung von embryonalen Stammzellen zu spielen, sein Fehlen führt zum embryonalen Abort (Huber, 2003). Dsc1, Dsc3 und Dsg1, Dsg3 kommen nur im Epithel der Epidermis, des Ösophagus und der Zervix vor, wobei Dsc1 und Dsg1 in den subkornealen Schichten vorliegen und Dsc3 und Dsg3 in den basalen und suprabasalen Schichten der Epidermis. Autoantikörper gegen diese Strukturen führen zu bullösen Dermatosen aus der Pemphigusgruppe.

Dsg und Dsc haben einen ähnlich aufgebauten extrazellulären Teil, über den sie durch Ausbildung sogenannter homophiler Bindungen mit den Dsg der Nachbarzelle den interzellulären Kontakt herstellen. Durch den intrazellulären Anteil wird die Verbindung zu desmosomalen Plaques hergestellt (Amagai, 1995). Der extrazelluläre Anteil besteht aus einer Amino-(NH₂)-terminalen Ankerdomäne und 4 Cadherin-Repeat-Domänen aus jeweils ca. 110 Aminosäuren (AS), die untereinander homophile Bindungen eingehen (Huber, 2003; Moll et al, 1996).

Der intrazelluläre Anteil der desmosomalen Cadherine wird gebildet von einer proximalen intrazellulären Ankerdomäne, gefolgt von einem intrazellulären Cadherin-Segment. Bei den Dsg schließt sich im Gegensatz zu den Dsc noch eine repetitive Sequenz aus 29 AS und eine glycinreiche C-terminale Domäne an (Huber, 2003).

1.2 Das Immunsystem

Das Immunsystem schützt uns vor eindringenden Pathogenen wie Bakterien, Viren, Parasiten, Pilzen oder anderen Umweltstoffen. Dabei hat das Immunsystem zwei entscheidende Aufgaben, es muss die fremden Stoffe als „fremd“ erkennen und entsprechend der Pathogenität diese eliminieren. Im Unterschied dazu müssen körpereigene Strukturen als „selbst“ erkannt und toleriert werden. Werden diese Funktionen fehlerhaft ausgeführt, kann es z.B. zu Reaktionen auf ungefährliche Fremdstoffe kommen, z.B. bei Allergien oder zur Bekämpfung von körpereigenen Stoffen, was dann zur Autoimmunität führt.

Das Immunsystem setzt sich zusammen aus dem angeborenen (unspezifischen) und dem erworbenen (spezifischen, adaptiven) Immunsystem.

1.2.1 Das angeborene Immunsystem

Das angeborene Immunsystem ist bereits voll funktionsfähig bevor infektiöse Erreger eingedrungen sind und kann ohne Verzögerung auf die Erreger reagieren (Vollmar und Dinger mann, 2005). Makrophagen und neutrophile Granulozyten sind zelluläre Bestandteile des angeborenen Immunsystems, sie phagozytieren eingedrungene Erreger und töten diese ab. Des Weiteren präsentieren Makrophagen abgebaute Peptide der Antigene, gebunden an *major histocompatibility complex* (MHC)-Klasse-II-Molekülen, die dann von T-Lymphozyten erkannt werden, hier interagiert das angeborene mit dem erworbenen Immunsystem. Makrophagen und Neutrophile sezernieren außerdem Zytokine, die zusammen mit den Komplementfaktoren und antibakteriellen Molekülen zu den löslichen Komponenten des unspezifischen Immunsystems zählen. Zytokine sind eine heterogene Gruppe von Mediatorsubstanzen, die auf vielfältige Weise Abläufe im Immunsystem, u.a. die Differenzierung und Funktion von Zellen regulieren. Komplementfaktoren sind Serumproteine, die sich ähnlich dem Gerinnungssystem kaskadenförmig aktivieren und letztlich zu einer Opsonierung von Antigenen, damit zu einer schnelleren Phagozytose durch Makrophagen, und zur Zelllyse führen (Gems a et al, 1997; Vollmar und Dinger mann, 2005).

Natürliche Killerzellen gehören zu den Lymphozyten, besitzen aber keine spezifischen Antigenrezeptoren und bilden keine Gedächtniszellen aus. Sie eliminieren vor allem virusinfizierte Körperzellen und Tumorzellen.

1.2.2 Das erworbene Immunsystem

Das erworbene Immunsystem reagiert im Gegensatz zum angeborenen Immunsystem erst 4-7 Tagen nach einer Infektion, da es durch verschiedene Mechanismen erst aktiviert werden muss. Charakteristisch ist, dass sich nach einmaligem Antigenkontakt ein sogenanntes immunologisches Gedächtnis entwickelt und bei erneutem Antigenkontakt sehr viel schneller und effektiver auf dieses Antigen reagiert werden kann (Vollmar und Dinger mann, 2005). Die Lymphozyten sind wesentlicher Bestandteil des erworbenen Immunsystems, das sich weiter in eine zelluläre -repräsentiert von den T-Lymphozyten- und eine humorale -repräsentiert von den B-Lymphozyten- Komponente einteilen

lässt. Die Lymphozyten ähneln sich morphologisch weitgehend, lassen sich aber z.B. mit immunhistochemischen Methoden oder fluoreszenzmarkierten Antikörpern anhand ihrer Oberflächeneigenschaften unterscheiden.

T-Lymphozyten entwickeln sich zusammen mit den B-Lymphozyten aus gemeinsamen lymphopoetischen Stammzellen, die nach der Geburt nur im Knochenmark, in der Embryonalzeit auch im Dottersack bzw. in der Leber, vorkommen (Gemsa et al, 1997). Einige Stammzellen wandern in den Thymus ein und differenzieren dort zu reifen T-Lymphozyten, die dann in die Blutbahn freigesetzt werden. Diese reifen T-Zellen haben Oberflächenrezeptoren (T-Zell-Rezeptoren, TZR) mit denen sie Antigene, die ihnen im Kontext mit MHC-Molekülen präsentiert werden, erkennen können. Sie sind weiterhin so selektioniert, dass diejenigen T-Lymphozyten überleben, die eine geringe Affinität für MHC-Proteine, die körpereigene Peptide präsentieren, haben (positive Selektion), während die T-Lymphozyten mit hoher Affinität durch Apoptose absterben (negative Selektion) (Vollmar und Dingermann, 2005). Mit dem Blut gelangen sie dann zu den sekundären lymphatischen Organen wie Lymphknoten, Milz, Tonsillen oder Peyer-Plaques. T-Lymphozyten können von diesen Organen aus über das Lymph- und Blutsystem zirkulieren und machen ca. 60-80 % der Lymphozyten des Blutes aus (Gemsa et al, 1997).

T-Lymphozyten lassen sich anhand von Oberflächenmolekülen (CD-Marker, *cluster of differentiation*) in 2 Subklassen unterscheiden (Vollmar und Dingermann, 2005).

CD4⁺-Zellen, die auch als T-Helfer-Zellen (T_h-Zellen) bezeichnet werden, erkennen nur Antigene, die zusammen mit MHC-Klasse-II-Molekülen präsentiert werden. Ihre unterschiedlichen Aufgaben bestehen darin, über Zytokine inaktive T-Lymphozyten zu aktivieren, B-Lymphozyten zur Differenzierung in antikörperbildende Plasmazellen zu veranlassen und antigen-präsentierende Zellen (APZ) und zytotoxische T-Zellen zu stimulieren. Die T_h-Zellen lassen sich nochmals unterteilen in T_h1-Zellen, die hauptsächlich Interleukin (IL)-2 und Interferon-γ produzieren und dadurch APZ und zytotoxische T-Zellen aktivieren, und T_h2-Zellen, die IL-4, -5, -9, -10 und -13 sezernieren und dadurch zur Stimulation der B-Lymphozyten beitragen. Die T_h1/T_h2-Zellen fördern jeweils ihre eigene Proliferation, hemmen aber die der jeweils anderen Gruppe (Vollmar und Dingermann, 2005).

CD8⁺-Zellen erkennen Antigene, die auf MHC-Klasse-I-Molekülen präsentiert werden. Sie haben zytotoxische Funktionen und führen zur Apoptose oder über Produktion von Perforinen zur Zelllyse von z.B. virusinfizierten Körperzellen. Sie spielen eine zentrale Rolle bei der Abwehr von intrazellulären Erregern und Tumorzellen (Vollmar und Dingermann, 2005).

Relativ neu entdeckt sind die regulatorischen T-Zellen (T_{reg}), sie tragen CD4- und CD25-Moleküle an ihrer Oberfläche und spielen eine Rolle bei der Regulation von Immunantworten und bei der Entstehung von Autoimmunreaktionen (Vollmar und Dingermann, 2005). Weiterhin ist erwähnenswert, dass T-Lymphozyten genauso wie B-Lymphozyten Gedächtniszellen ausbilden, die bei einem zweiten Antigenkontakt eine schnellere und effektivere Reaktion möglich machen.

Antigenpräsentation ist essentiell für die Aktivierung von T-Lymphozyten und wird vermittelt durch MHC-Moleküle, auch HLA-Moleküle (humanes Leukoytenantigen) genannt, ab (s. Abb. 1.4.). MHC-Proteine werden auf dem Chromosom 6 kodiert (Gemsa et al, 1997). Es existieren zwei Untergruppen: MHC-Klasse-I-Moleküle (HLA-A, -B, -C) werden auf allen kernhaltigen Zellen und MHC-Klasse-II-Moleküle (HLA-DQ, -DP, -DR) auf Zellen des Immunsystems, hauptsächlich auf dendritischen Zellen und Makrophagen, also auf APZ, expremiert (Gemsa et al, 1997). MHC-Klasse-I-Moleküle binden und präsentieren von Proteasen abgebaute Antigenfragmente zelleigener Proteine und Viren. MHC-Klasse-II-Moleküle präsentieren dagegen eher von Lysosomen gespaltene Peptide extrazellulärer Antigene (Vollmar und Dingermann, 2005). T-Zellen erkennen immer nur eine MHC-Klasse (s.o.). Die Expression der MHC-Proteine wird durch Zytokine gesteuert.

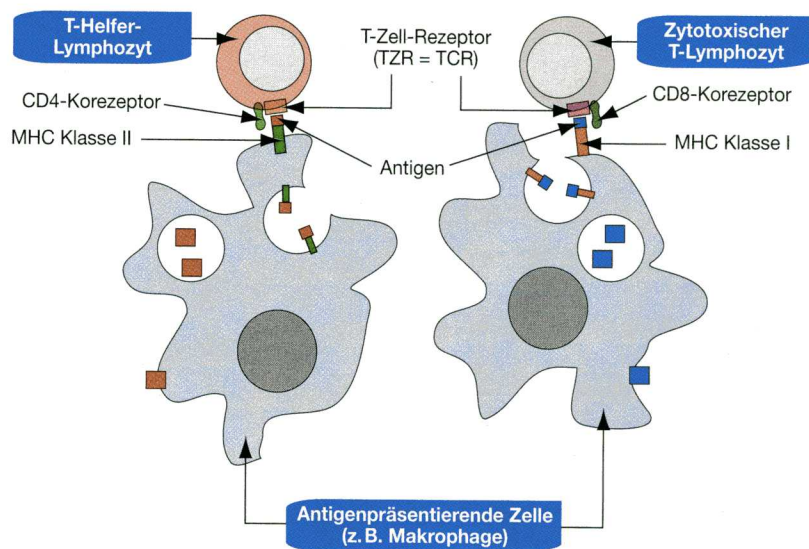


Abb. 1.4.: Darstellung der Antigenpräsentation (aus Welsch, 2006).

Antigenpräsentierende Zellen präsentieren abgebaute Antigenpeptide mit Hilfe von MHC-Klasse-I bzw. -Klasse-II den T-Lymphozyten, die sie mit ihrem T-Zell-Rezeptor erkennen.

B-Lymphozyten differenzieren innerhalb des Knochenmarks zu reifen Lymphozyten und werden dann in die Blutbahn abgegeben, wodurch sie zu den sekundären peripheren lymphatischen Organen gelangen. B-Lymphozyten zirkulieren in geringerer Zahl als T-Lymphozyten frei im Blut, ihr Gesamtanteil im Blut macht nur etwa 10-15% der Lymphozyten aus (Gemsa et al, 1997). Sie haben membranständige Immunglobulin (Ig) M- und IgD- Moleküle an ihrer Oberfläche, die als Rezeptor für jeweils ein spezifisches Antigen wirken und als B-Zell-Antigenrezeptor bezeichnet werden (Gemsa et al, 1997, Janeway et al, 2002). Bindet ein Antigen an den Rezeptor, werden die B-Lymphozyten aktiviert und teilen sich, wobei ein Teil zu Gedächtniszellen wird und ein anderer Teil zu Plasmazellen differenziert. Die Gedächtniszellen exprimieren nun nicht mehr IgM, sondern IgG an ihrer Oberfläche und sezernieren beim nächsten Antigenkontakt spezifisches IgG. Bei der Bildung der anderen Ig-Subklassen muss von der IgM-Synthese auf die Synthese der anderen Klassen umgeschaltet werden (*Ig-class-switch*) (Gemsa et al, 1997). Die Plasmazellen bilden spezifische Antikörper gegen das Antigen, das vorher den B-Lymphozyt aktiviert hat, und geben diese in die Blutbahn ab. Um alle möglichen Antigene erkennen zu können, gibt es eine unglaubliche Vielfalt von Antigenbindungsstellen (ca. 10^8),

die auf einer somatischen Rekombination von Gensegmenten der variablen Bereiche der Antikörper beruhen (Vollmar und Dingermann, 2005).

Zur Aktivierung der B-Lymphozyten wird neben dem direkten Antigenkontakt meistens noch eine Aktivierung durch T_h -Zellen benötigt. Wenn die B-Lymphozyten das Antigen aufgenommen haben, wird es in Lysosomen abgebaut und dann mit MHC-II-Klasse-Proteinen an der Zelloberfläche präsentiert. Hieran binden dann TZR der T_h -Zellen, die dadurch stimuliert werden und über die löslichen Komponenten IL-4, -5 und -6 von T_h2 -Zellen wiederum B-Lymphozyten zur Differenzierung stimulieren (Gemsa et al, 1997, Janeway et al, 2002).

Antikörper werden von reifen B-Lymphozyten bzw. Plasmazellen sezerniert, es handelt sich um Ig, die strukturell den membranständigen Oberflächenmolekülen der B-Zellen entsprechen. Der einzige Unterschied besteht in einer Sequenz am Carboxylende der konstanten Region der schweren Kette (Janeway et al, 2002). Sie werden ins Blut abgegeben und binden dort an die jeweiligen Antigene. Die Eliminierung der Antigene erfolgt auf drei unterschiedlichen Wegen: Einmal führt die Bindung des Antikörpers an das Antigen dazu, dass das Antigen nicht mehr an die Zielzelle binden kann bzw. dass bakterielle Toxine nicht in die Zielzelle eindringen können. Diesen Vorgang nennt man Neutralisierung der Erreger. Des Weiteren führt die Antikörper-Antigen-Bindung zu einer erleichterten Phagozytose, indem der F_c (*fragment crystallizable*)-Teil des Antikörpers von phagozytierenden Zellen über den so genannten F_c -Rezeptor erkannt wird oder über eine Komplementbindung (Janeway et al, 2002).

Alle Antikörper bestehen aus 2 leichten (ca. 220 AS) und zwei schweren (ca. 440 AS) Polypeptidketten. Die fünf Subklassen der Ig unterscheiden sich lediglich in der Struktur der schweren Ketten, die den Subtyp IgG, IgM, IgD, IgE oder IgA bestimmen und dementsprechend mit den jeweiligen griechischen Buchstaben γ , μ , δ , ϵ , α bezeichnet werden (Janeway et al, 2002; Vollmar und Dingermann, 2005). Anhand von IgG wird im Folgenden der Aufbau eines Antikörpers erklärt (s. Abb. 1.5.). IgG stellt die größte Gruppe der Ig dar und ist auch für die vorliegende Arbeit das wichtigste Ig. Die beiden schweren Ketten, auch H-Ketten (*heavy*), werden über Disulfidbrücken miteinander und mit den leichten Ketten, auch L-Ketten (*light*), verbunden.

Das Antikörpermolekül lässt sich in zwei funktionelle Regionen einteilen, zum einen gibt es das carboxylterminale Ende der schweren Ketten, das mit den jeweiligen Effektorzellen kommuniziert, und als F_c -Fragment bezeichnet wird zum anderen gibt es die beiden F_{ab} -Regionen (*fragment antigen binding*), die aus dem aminoterminalen Ende der schweren und leichten Ketten bestehen und spezifisch gleichzeitig zwei identische Antigene binden können (Janeway et al, 2002). Für die Antigenspezifität des Antikörpers sind die beiden variablen Regionen am F_{ab} -Fragment verantwortlich, die bei jedem Antikörper unterschiedlich sind und entscheidend zur Effektivität unseres Immunsystems beitragen, da so der Vielfalt der Antigene entgegnet werden kann (Vollmar und Dingermann, 2005). Das IgG liegt in vier Subklassen (IgG_1 , IgG_2 , IgG_3 , IgG_4) vor, die durch die Struktur der schweren Kette γ bedingt sind (Vollmar und Dingermann, 2005).

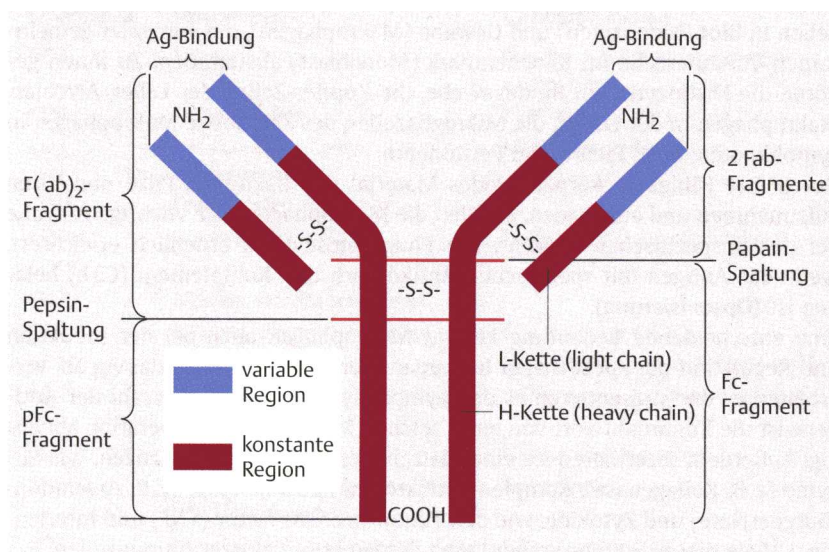


Abb. 1.5.: Antikörperaufbau (aus Jung und Moll, 2003). Ag = Antigen; Fab = *fragment antigen binding*; Fc = *fragment crystallizable*.

1.2.3 Autoimmunität

Autoimmunität entsteht, wenn sich die Immunantwort gegen körpereigene Antigene richtet. Kommt es im Rahmen dieser Immunantwort zu einer klinisch manifesten Entzündung, ist aus der Autoimmunität eine Autoimmunerkrankung geworden. Dies muss nicht immer der Fall sein, so lassen sich insbesondere bei älteren Menschen z.B. ANA (Antinukleäre Antikörper) nachweisen, ohne dass eine Autoimmunerkrankung vorliegt (Braun-Falco et al, 2005). Damit eine

Autoimmunkrankheit vorliegt, müssen die Autoantikörper eine pathogenetische Relevanz haben, d.h. sie müssen zu bestimmten Symptomen führen. Gezeigt werden kann dies entweder experimentell durch den Transfer von Autoantikörpern in Versuchstiere, die dann ähnliche Symptome entwickeln, oder durch klinische Beobachtungen, z.B. von Symptomen bei Neugeborenen durch die diaplazentare Übertragung von IgG-Autoantikörpern der Mutter (Janeway et al, 2002).

Letztlich sind die Auslöser von Autoimmunerkrankungen nicht gänzlich erforscht, es werden vielfältige Mechanismen diskutiert. Häufig werden systemische Infektionen oder Entzündungsreaktionen als ursächlich betrachtet, z.B. indem sie kostimulatorische Moleküle freisetzen, die die T-Zell-Anergie (Anergie bzw. Inaktivierung autoreaktiver T-Lymphozyten auf Grund fehlender Kostimulation) durchbrechen (Vollmar und Dinger mann, 2005). Weiterhin ist bekannt, dass einige Krankheitserreger ähnliche Epitope aufweisen wie Autoantigene, dies führt dann zu einer Immunantwort gegen den Erreger, aber auch gegen körpereigene Proteine (*Molekulares Mimikry*) (Vollmar und Dinger mann, 2005). Typisches Beispiel hierfür ist die Infektion mit bestimmten Streptokokkenenerregern, die zu Reaktionen gegen Antigene in Herz, Nieren und Gelenken führen kann (rheumatisches Fieber). Auch das Phänomen des *epitope spreading* steht möglicherweise im Zusammenhang mit Entzündungsreaktionen. Epitope sind kurze Peptidsequenzen bzw. Proteinstrukturen auf Antigenen, an denen jeweils ein Antikörper bindet bzw. die von TZR erkannt werden. Ein Antigen besitzt verschiedene Epitope. Normalerweise richtet sich die initiale Immunantwort gegen ein immundominantes Epitop. Bei dem *epitope spreading* entwickeln sich Immunantworten gegen Epitope, die nicht krankheitsauslösend sind und nicht mit den primär krankheitsauslösenden Epitopen kreuzreagieren (Vanderlugt und Miller, 1996). Diese Epitope können entweder auf dem gleichen Protein (intramolekulares *epitope spreading*) oder auf anderen Proteinen des gleichen Gewebes (intermolekular) liegen (Chan et al, 1998). Ursächlich betrachtet man u.a. die Demaskierung bisher „versteckter“ (Auto-)Antigene durch eine Entzündungsreaktion, gegen die sich dann die Immunreaktion richtet (Chan et al, 1998).

Eine weitere mögliche Ursache ist das Versagen der Funktion der T_{reg}-Zellen, die normalerweise die T-Zell-Proliferation durch Sekretion von IL-10 und TGF

(tumor growth factor) hemmen und damit eine Autoimmunreaktion verhindern (Vollmar und Dinger, 2005).

Auffällig ist auch eine Assoziation von Autoimmunerkrankungen mit bestimmten HLA-Klasse-II-Allelen, die scheinbar prädisponierend wirken (Janeway, 2002). So erhöht sich das Risiko an Pemphigus vulgaris zu erkranken bei Vorliegen von HLA-DR4 (relatives Risiko: 14,4) und das Risiko an M. Bechterew zu erkranken bei dem HLA-B27-Allel (relatives Risiko: 87,4) (Janeway et al, 2002).

1.3 Pemphigus-Erkrankung

Die Pemphigus-Erkrankung ist eine Autoimmunerkrankung, bei der durch Bindung von Autoantikörpern ein Verlust des Zell-Zell-Kontaktes epidermaler Keratinozyten und damit eine intraepidermale Blasenbildung induziert wird.

Die Gruppe der bullösen Autoimmunerkrankungen stellt eine heterogene Gruppe von Autoimmunerkrankungen dar, die die Bildung von Autoantikörpern gegen Adhäsionsmoleküle der Epidermis bzw. der dermoepidermalen Junktionszone gemein haben. Im Gegensatz zur Pemphigus-Erkrankung führen die übrigen Autoimmundermatosen, z.B. Pemphigoide, Epidermolysis bullosa acquisita, zu subepidermalen Blasenbildung (Braun-Falco et al, 2005, Hertl und Schuler, 2002a; siehe auch Abb. 1.2.). Neben den Pemphigus-Erkrankungen zählen die Pemphigoid-Erkrankungen, die lineare IgA-Dermatose, die Epidermolysis bullosa acquisita und die Dermatitis herpetiformis Duhring zu den bullösen Autoimmundermatosen, die genauere Klassifikation, auch der verschiedenen Pemphigus-Typen zeigt Tab. 1.1.

Intraepidermale Spaltbildung	Subepidermale Spaltbildung
1. Pemphigus vulgaris 1.1. Pemphigus vegetans 1.2. Pemphigus herpetiformis	1. Pemphigoid 1.1. Bullöses Pemphigoid 1.2. Pemphigoid gestationis 1.3. Vernarbendes Schleimhautpemphigoid 1.4. Sonstige Pemphigoidvarianten
2. Pemphigus foliaceus 2.1. Fogo selvagem 2.2. Pemphigus erythematosus 2.3. Pemphigus seborrhoicus	2. Lineare IgA-Dermatose 2.1. chronisch bullöse Dermatose des Kindesalters 2.2. Adulte Form
3. Paraneoplastischer Pemphigus	3. Epidermolysis bullosa acquisita
4. Arzneimittelinduzierter Pemphigus	4. Dermatitis herpetiformis Duhring
5. IgA-Pemphigus 5.1. Subkorneale pustulöse Dermatose 5.2. intraepidermale neutrophile Dermatose	

Tab. 1.1.: Klassifikation der bullösen Autoimmundermatosen (modifiziert nach Hertl und Schuler, 2002a)

Im Mittelpunkt dieser Arbeit stehen der Pemphigus vulgaris (PV) und der Pemphigus foliaceus (PF), deren Pathogenese, Klinik, Diagnostik und Therapie im Folgenden genauer dargestellt werden.

1.3.1 Pemphigus vulgaris

PV ist mit einer Inzidenz von 1-5 Neuerkrankungen/1 Mio/Jahr die häufigste Pemphigus-Form im Erwachsenenalter (Braun-Falco et al, 2005; Hertl und Schuler 2002a). Sie ist eine potentiell lebensbedrohliche Erkrankung, die vor Einführung der systemischen Kortikosteroidtherapie häufig letal endete. Durch die verbesserte immunsuppressive Therapie liegt die Mortalität des PV heutzutage bei 5-10 %, meist bedingt durch iatrogene Komorbidität (Braun-Falco et al, 2005). PV betrifft bevorzugt Personen im mittleren Lebensalter, es besteht keine Geschlechterpräferenz (Bickle et al 2002; Jung und Moll, 2003).

Pathogenetisch bedeutsam ist die Bildung von zirkulierenden Autoantikörpern gegen desmosomale Adhäsionsmoleküle, dies führt zu einem Verlust des Zell-Zell-Kontaktes und damit zur intraepidermalen Spaltbildung, der Akantholyse (Karpati et al, 1993). Das Autoantigen des PV, das 130 kDa umfassende desmosomale Molekül der Cadherinfamilie Dsg3, ist kloniert und weitgehend charakterisiert (Amagai, 1995; Amagai et al, 1991, 1992, 1996; Ishii et al, 1997; Yeh et al, 2006). Häufig finden sich gleichzeitig auch Autoantikörper gegen Dsg1 (Amagai et al, 1996, 1999a; Emery et al, 1995; Miyagawa et al, 1999), ein

strukturell verwandtes Protein (Isoform) mit einer Größe von 160 kDa. In einigen Fällen wurden bei PV-Patienten auch Autoantikörper gegen Dsc nachgewiesen (Hashimoto et al, 1995). Weiterhin sind auch Autoantikörper gegen die cholinergen Rezeptoren Pemphaxin und $\alpha 9$ -Acetylcholin(ACh)-Rezeptor beschrieben, deren pathogenetische Rolle noch nicht abschließend erforscht ist (Nguyen et al, 2000 a, b).

Die Heterogenität der Autoantikörper basiert möglicherweise auf dem Phänomen des *epitope spreading* (s. Punkt 1.2.3.). Während sich zu Beginn der Erkrankung die Immunantwort gegen das ursprünglich immundominante Epitop, wie dem extrazellulären Anteil von Dsg3, richtet, kommt es im Verlauf der Erkrankung möglicherweise zu einer Autoimmunantwort gegen weitere Anteile desselben Antigens oder gegen andere Zielstrukturen, wie z.B. Dsg1, Dsc oder ACh-Rezeptoren (Braun-Falco et al, 2005; Ding et al, 1997; Hertl und Schuler 2002b; Salato et al, 2005).

Die Autoantikörper gegen Dsg beim Pemphigus richten sich gegen den NH-terminalen Teil der extrazellulären Domäne, hauptsächlich gegen die extrazellulären Domänen (EC) 1, 2 (Amagai et al, 1992, 1994; Sekiguchi et al, 2001; Tsunoda et al, 2003). Hier scheinen vor allem die IgG₄-Autoantikörper gegen konformationsabhängige und nicht nichtkonformationsabhängige Epitope der NH-terminalen Domänen EC1 und EC2 für die Akantholyse von Bedeutung zu sein (Futei et al, 2000; Hertl, 2000; Müller et al, 2006, 2008; Sekiguchi et al, 2001).

Die Mechanismen der durch Autoantikörperbindung vermittelten Adhäsionsstörung sind noch nicht abschließend geklärt. Es gibt Hinweise auf den Einfluss von Kalziumionen, deren Konzentration nach Binden der Autoantikörper kurzfristig intrazellulär ansteigt, und einer dadurch gestörten Signaltransduktion der Adhäsionsmoleküle (Seishima et al, 1995), sowie über eine Aktivierung von Proteasen wie Plasminogenaktivator und Phospholipase C (Esaki et al, 1995). Die Phosphorylierung von Dsg3 (Aoyama et al, 1999), Plakoglobin (Caldelari et al, 2001) und die Synthese von IL-1 α und TNF- α (Feliciani et al, 2000) scheinen eine Rolle zu spielen. Hinweise für die Pathogenität der Autoantikörper gegen Dsg1 und 3 basieren auf verschiedenen Beobachtungen:

- Ø Ig der Seren von Pemphigus-Patienten induzieren in vitro eine Akantholyse (Amagai, 1995; Ishii et al, 2005).

- Ø Autoantikörper gegen Dsg1 und Dsg3 konnten bei Patienten mit PV oder PF gefunden werden, nicht jedoch in gesunden Kontrollgruppen (Eyre und Stanley, 1988; Ishii et al, 1997).
- Ø Der passive Transfer von IgG aus Pemphigus-Seren in neonatale Mäuse führt zu Pemphigus-ähnlichen Blasenbildungen (Anhalt et al, 1982; Amagai et al, 1992). Rekombinantes Dsg3 kann die pathogenen Autoantikörper adsorbieren und dadurch die Ausbildung von Blasen in dem passiven Transfermodell verhindern (Amagai et al, 1994, 1996; Ishii et al, 1997).
- Ø Neugeborene von Müttern mit aktivem Pemphigus können auf Grund der diaplazentaren Übertragung der Autoantikörper post partum eine intra-epidermale Blasenbildung aufweisen, die mit der Halbwertszeit der maternalen Autoantikörpern korreliert (Merlob et al, 1986). Interessant ist, dass lediglich Anti-Dsg3-Autoantikörper bei Neugeborenen Hautläsionen verursachen können, da die Expression der Dsg in der Epidermis von Neugeborenen der Verteilung von Dsg in der Schleimhaut von Erwachsenen entspricht (Campo-Voegeli et al, 2002).
- Ø Die Höhe der Autoantikörpertiter korreliert häufig mit der individuellen Krankheitsaktivität (Cheng et al, 2002; Harman et al, 2001; Ishii et al, 1997; Kumar et al, 2006; Sams und Jordon, 1971).

Obwohl die Korrelation in den meisten Fällen zutrifft, sind in der Literatur Ausnahmen beschrieben worden, die hauptsächlich auf einer persistierenden Autoantikörperhöhe trotz klinischer Remission beruhen (Kwon et al, 2008).

Die Autoantikörperantwort beim PV ist polyklonal. Hauptsächlich lassen sich IgG₄-, aber auch IgG₁-Autoantikörper, in der aktiven Krankheitsphase nachweisen (Bhol et al, 1995; Spaeth et al, 2001; Torzecka et al, 2007). Torzecka et al stellten fest, dass bei gesunden Verwandten von Pemphigus-Patienten signifikant häufiger Autoantikörper, insbesondere IgG₂, vorkommen als in der normalen Bevölkerung (Torzecka et al, 2007). Bhol et al zeigten, dass bei Patienten in Remission, gesunden Verwandten von Pemphigus-Patienten und gesunden Trägern von Pemphigus-assoziierten HLA-Allelen niedrigtitrige IgG₁-Autoantikörper vorkommen (Bhol et al, 1995). Die Bedeutung dieser Autoantikörper ist bis heute noch nicht abschließend geklärt. Die bisher stärkste genetische Prädisposition beim PV zeigt sich zu bestimmten HLA-Klasse-II-

Allelen, wie dem HLA-DRB1*0402-Allel, vor allem bei Ashkenazi-Juden, und dem HLA-DQB1*0503-Allel, vor allem bei anderen Ethnien, wie z.B. nicht-jüdischen Europäern, Indianern, Japanern (Ahmed et al, 1990, 1991; Delgado et al, 1997; Wucherpfennig et al, 1995).

Dsg1 und Dsg3 sind in den verschiedenen Schichten der Epidermis unterschiedlich expremiert (Amagai et al, 1996). Dsg3 wird in nicht verhornendem Plattenepithel, wie z.B. der Mundschleimhaut (MSH), durchgehend in allen Schichten expremiert, während Dsg1 hauptsächlich in den oberflächlichen subkornealen Schichten vorliegt. Anders verhält es sich in verhornendem Plattenepithel, der Epidermis, wo Dsg3 basal und suprabasal expremiert wird und Dsg1 vor allem subkorneal (Amagai et al, 1996; Hertl und Schuler, 2002b; Mahoney et al, 1999; Shirakata et al, 1998). Eine schematische Darstellung der Expression der Dsg innerhalb der Epithelien zeigt Abbildung 1.6.

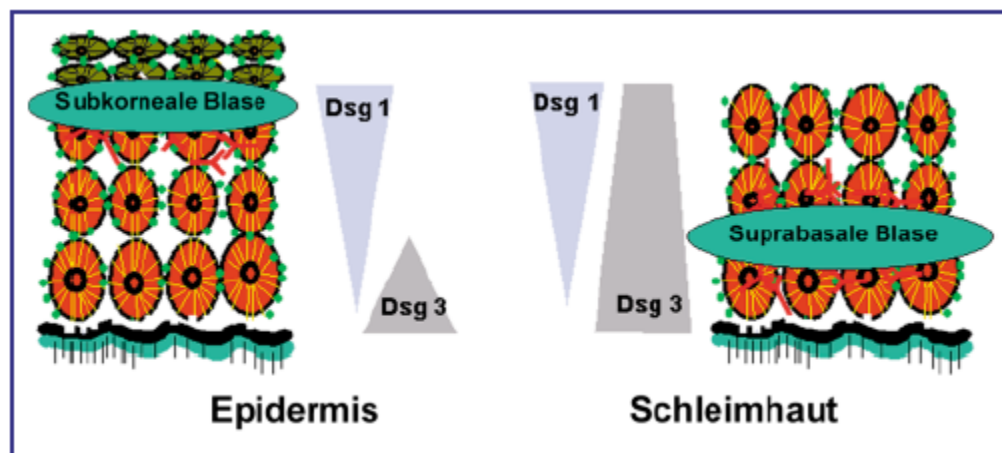


Abb. 1.6.: Expression von Desmoglein1 und 3 (aus Sitaru et al, 2004). Dargestellt ist die Expression der Desmoglein (Dsg) 1 und 3 in verhornendem Plattenepithel, der Epidermis, und in nicht verhornendem Plattenepithel, der Schleimhaut, mit der Lokalisation der Blasenbildung bei Vorhandensein von Autoantikörpern gegen Dsg1 in der Haut und Autoantikörpern gegen Dsg3 in der Schleimhaut.

Die sogenannte Kompensationstheorie erklärt die Lokalisation der Spaltbildung beim PV bzw. PF anhand der differentiellen Expression der Dsg (Amagai et al, 1996; Braun-Falco et al, 2005). Sind lediglich Autoantikörper gegen Dsg3 vorhanden, kommt es also zur intraepidermalen Blasenbildung innerhalb von nicht verhornendem Plattenepithel, wie es für die mukosale Variante des PV typisch ist. Der PF hingegen, bei dem es nur zur Bildung von Autoantikörpern

gegen Dsg1 kommt, zeigt subkorneale intraepidermale Blasenbildung der Epidermis (Amagai et al, 1999b). Kommt es nun im Krankheitsverlauf des PV zusätzlich zur Bildung von Autoantikörpern gegen Dsg1, so führt dies zu einem verändertem klinischen Phänotyp mit zusätzlicher Ausbildung von Läsionen an der Haut (mukokutane Variante des PV) (Amagai et al, 1999b; Günther et al, 2007; Mahoney et al, 1999; Miyagawa et al, 1999). Schließlich kann es im Verlauf eines PV zu einem Wechsel der klinischen Manifestation im Sinne eines PF kommen, verbunden mit einem quantitativen und qualitativen Wechsel der Autoantikörper gegen Dsg1 und Dsg3 (Harman et al, 2002; Iwatsuki et al, 1991). Ishii et al berichten von einem Fall, bei dem zuerst ein PF vorlag und im weiteren Krankheitsverlauf ein Wechsel zu dem klinischen Bild eines PV erfolgte (Ishii et al, 2000).

In den letzten Jahren ist die Bedeutung autoreaktiver T-Lymphozyten in der Pathogenese des Pemphigus von verschiedenen Arbeitsgruppen herausgestellt worden. Bei sogenannten T-Zell-abhängigen Antigenen ist die Antikörperproduktion von B-Lymphozyten abhängig von der Interaktion mit T_h-Zellen. Nach einer antigenvermittelten Aktivierung CD4⁺-T-Zellen sezernieren diese Zytokine, die in B-Zellen eine Differenzierung mit nachfolgender Antikörperproduktion und Ig-Isotypen-Switch induzieren (Lin et al, 1997b). Verschiedene unabhängige Arbeitsgruppen stellten fest, dass CD4⁺-T-Zellen von Pemphigus-Patienten durch rekombinantes Dsg3-Protein aktiviert werden können (Hertl et al, 1998 a, b; Lin et al, 1997a, b; Veldman et al, 2003). Verschiedene T-Zell-Epitope des Dsg3 konnten anhand von T-Zell-Klonen aus dem peripheren Blut von PV-Patienten identifiziert werden. Die Arbeitsgruppe von Hertl et al konnte auch das Vorkommen von autoreaktiven T-Zellen bei gesunden Trägern der PV-assoziierten HLA-Klasse-II-Allelen feststellen (Hertl et al, 1998 a, b). Lin et al zeigten nicht nur eine mögliche Triggerung von T-Zellen durch Dsg3, sondern bei PF-Patienten auch durch Stimulation mit Dsg1 (Lin et al, 1997a).

Die Dsg3-reaktiven T-Zellen bei PV-Patienten und gesunden Genträgern sind fast immer CD4⁺-Zellen, vereinzelt wurden auch CD8⁺-Zellen gefunden (Hertl et al, 2006; Lin et al, 1997b). Diese T-Zellen sind vom T_h1- und T_h2- Typ, wobei die T_h2-Zellen bei allen Pemphigus-Patienten vorkommen, die T_h1-Zellen aber hauptsächlich bei der chronisch aktiven Verlaufsform des Pemphigus, dies

korreliert mit den humoralen Daten, da IgG₄ (T_h2 getriggert) bei akuter Erkrankung und IgG₁ (T_h1 getriggert) bei chronisch aktiven Verlaufsformen vorkommt (Veldman et al, 2003). T_h1-Zellen sezernieren u.a. Interferon γ , während T_h2-Zellen hauptsächlich IL-4, IL-5 und IL-10 produzieren (Hertl und Riechers, 2001; Veldman et al, 2003). Veldman et al fanden heraus, dass die gesunden Träger von PV-assoziierten HLA-Allelen Dsg3-reaktive T_{reg}-Zellen besitzen, die über eine Produktion von IL-10 und TGF- β die Dsg3- auto-reaktiven T-Zellen inhibieren und so zur Ausbildung und Aufrechterhaltung peripherer Toleranzmechanismen gegenüber Dsg3 beitragen (Veldman et al, 2004 a, b).

Klinisch imponiert der PV häufig initial mit schmerzhaften Erosionen der MSH, die zu einer deutlich reduzierten Nahrungsaufnahme führen können (Bickle et al, 2002; Sitaru et al, 2004), siehe auch Abbildung 1.7.. Auch andere Schleimhäute, wie z.B. die Genitalschleimhaut oder Konjunktiven sind in einigen Fällen betroffen. Häufig kommen beim mukokutanem Krankheitsverlauf schlaffe, konfluierende Blasen der Haut hinzu, die aber sehr schnell einreißen, so dass häufig nur Erosionen und Krusten klinisch sichtbar werden (Braun-Falco et al, 2005; Hertl und Schuler, 2002a; Rose et al, 2007), siehe auch Abbildung 1.8..



Abb. 1.7.: Typische Mundschleimhautbefunde beim Pemphigus vulgaris.
(Dermatologische Universitätsklinik Marburg).



Abb. 1.8.: Typischer Hautbefund beim Pemphigus vulgaris.
Pfeile: positives Nikolski-Zeichen (Dermatologische
Universitätsklinik Marburg).

Die Erosionen heilen ohne Narbenbildung ab, hinterlassen aber eine reaktive Hyperpigmentierung, die nur langsam abblasst (Jung und Moll, 2003). Ein Juckreiz besteht typischerweise nicht. Es lassen sich durch tangentialen Druck Blasen hervorrufen (Nikolski-Phänomen I) bzw. bestehende intakte Blasen lassen sich verschieben (Nikolski-Phänomen II).

Die **Diagnostik** des PV basiert auf charakteristischen klinischen Symptomen, Histologie und direkten und indirekten immunfluoreszenten Untersuchungen. Zur Diagnosebestätigung bzw. im Rahmen der Verlaufskontrolle werden Enzyme-linked-immunosorbent-assay (ELISA), Immunoblot und Immunopräzipitation eingesetzt.

Die histologische Untersuchung einer Hautbiopsie dient zur Differenzierung zwischen einer intraepidermalen und einer subepidermalen Spaltbildung (Eming und Hertl, 2006). Ein typisches Beispiel eines Histologiebefundes beim PV zeigt Abbildung 1.9.A. Am Boden der entnommenen Blase lassen sich histologisch basale Keratinozyten nachweisen, die ein sogenanntes „Grabsteinmuster“ bilden (Sitaru et al, 2004). Gelegentlich findet man ein entzündliches eosinophiles Infiltrat, die so genannte „eosinophile Spongiose“ (Hertl und Schuler, 2002c). In der direkten Immunfluoreszenz (DIF) (s. Abb. 1.9.B) werden gewebegebundene Autoantikörper nachgewiesen, die beim PV ein interzelluläres Bindungsmuster von IgG-Autoantikörpern und Komplementfaktoren aufweist (Hertl und Schuler, 2002c; Jainta et al, 2001). Dieses typische Fluoreszenzmuster lässt sich z.B. von linearen IgG- und Komplementfaktoren-

Bindungen an der Basalmembranzzone im Rahmen des bullösen Pemphigoids gut unterscheiden (Eming und Hertl, 2006).

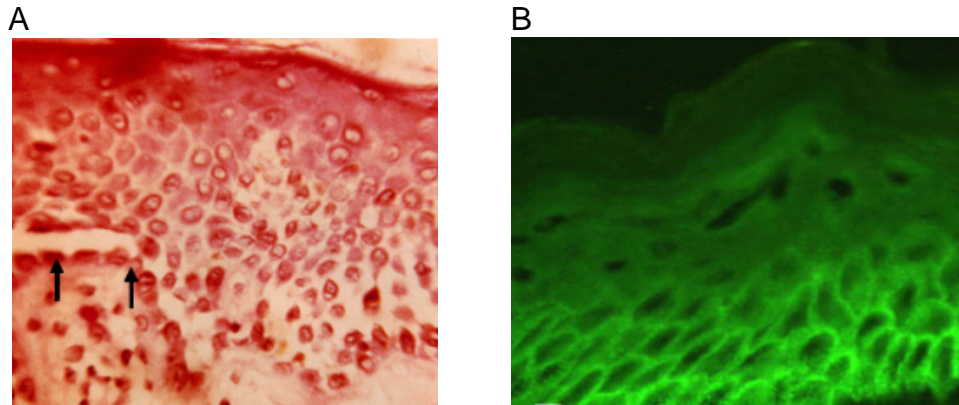


Abb. 1.9.: Histologie (A) und direkte Immunfluoreszenz (B) beim Pemphigus vulgaris.

In der histologischen Untersuchung ist beim Pemphigus vulgaris eine suprabasale Akantholyse der Epidermis erkennbar (Pfeile). Die direkte Immunfluoreszenz zeigt ein typisches interzelluläres, netzartiges Verteilungsmuster durch Darstellung von in vivo an Desmosomen gebundene IgG-Autoantikörper, anhand monoklonaler fluoreszenzmarkierter Anti-IgG-Autoantikörper (Dermatologische Universitätsklinik Marburg).

Die indirekte Immunfluoreszenz (IIF) weist zirkulierende Autoantikörper nach, als Substrat dient hier meistens Affenösophagus oder humane Haut. Der paraneoplastische Pemphigus reagiert im Gegensatz zu den anderen Pemphigusarten auch mit plakinreichen Geweben wie z.B. Meerschweinchen-ösophagus und Blasenepithel der Ratte (Hertl und Schuler, 2002c). Beim PV zeigt sich in der IIF eine netzförmige, interzelluläre Reaktivität von zirkulierenden IgG-Autoantikörpern (Hertl und Schuler, 2002c; Rose et al, 2007). Seitdem rekombinante Dsg1- und Dsg3-Proteine für ELISA zur Verfügung stehen, können Dsg1 und Dsg3-Autoantikörper auch quantitativ untersucht werden (Sitaru et al, 2004). Somit ist eine serologische Differenzierung von PV und PF möglich. Immunoblotuntersuchungen ermöglichen weiterhin eine Differenzierung der verschiedenen Ig-Subklassen.

Die **Therapie** der Pemphigus-Erkrankungen hat sich seit Einführung der systemischen Glukokortikoide grundlegend verändert, was zu einer immensen Abnahme der Mortalität geführt hat. Aufgrund der wenigen kontrollierten Therapiestudien sind evidenzbasierte Therapieschemata aber eingeschränkt (Hofmann et al, 2009). Seit Jahren gelten Glukokortikoide als Standardtherapie, meist werden zusätzlich andere sogenannte adjuvante Immunsuppressiva

gegeben, um die Dosis der Glukokortikoide, und damit auch die Nebenwirkungen, zu reduzieren (Braun-Falco et al, 2005; Goebeler et al, 2004; Hertl und Schuler, 2002c). Eingesetzte Immunsuppressiva sind hierbei in erster Linie Azathioprin und Mycophenolatmofetil (MMF); Cyclophosphamid und Chlorambucil werden bei schweren therapierefraktären Verläufen eingesetzt (Harman et al, 2003; Hertl und Schuler, 2002c; Jainta et al, 2001). Weitere adjuvante Therapiemöglichkeiten sind die Plasmapherese und die spezifische Immunadsorption (IA) (Eming et al, 2006; Schmidt et al, 2003; Pfütze et al, 2009; Zillikens et al, 2007). Bei beiden Verfahren werden die pathogenen Autoantikörper in kurzer Zeit entfernt, wobei der Vorteil der IA darin liegt, dass sie wesentlich spezifischer ist als die Plasmapherese, da sie im Gegensatz zur dieser nur die IgG-Autoantikörper entfernen kann; die Plasmapherese entfernt im Prinzip alle Proteine unspezifisch (Jainta et al, 2001). Die IA ist spezialisierten Zentren vorbehalten und sollte immer adjuvant, d.h. zusammen mit einer immunsuppressiven Therapie durchgeführt werden (Rose et al, 2007). Als weitere Option bei schweren therapierefraktären Fällen oder bei Kontraindikationen für Glukokortikoide oder anderen Immunsuppressiva bietet sich die Gabe von hochdosierten intravenösen Immunglobulinen (IVIG) an (Bystryn und Rudolph, 2005b; Enk et al, 2003; Jolles, 2001).

Rituximab, ein monoklonaler Antikörper, der gegen CD20 exprimierende B-Lymphozyten gerichtet ist, wird zur Behandlung von Pemphigus eingesetzt (Arin et al, 2005; Joly et al, 2007; Schmidt et al, 2006). Rituximab wurde als Therapeutikum der Non-Hodgkin-Lymphome der B-Zell-Reihe entwickelt, ist aber bereits zusätzlich für die Therapie der rheumatoiden Arthritis zugelassen. Über die Depletion CD20⁺ B-Lymphozyten kommt es zu einer Abnahme autoreaktiver Plasmazellen und somit zu einem Absinken der Dsg1- und Dsg3-Autoantikörper (Eming et al, 2008; Nagel et al, 2009; Rose et al, 2007). Zusätzlich kommt es zu einer spezifischen Downregulation Dsg3-reaktiver CD4⁺-T_H-Zellen (Eming et al, 2008).

Die durch Rituximab verbesserte klinische Symptomatik setzt aber auch hier verzögert ein, so dass Rituximab mit anderen Immunsuppressiva kombiniert werden sollte (Goebeler et al, 2004).

1.3.2 Pemphigus foliaceus

PF ist eine seltenere Variante der Pemphigus-Erkrankung, in Teilen von Südamerika und Tunesien treten endemische Varianten auf (Bastuji-Garin et al, 1995; Morini et al, 1993).

Dieser endemische PF wird auch brasilianischer PF oder auch Fogo selvagem („wildes Feuer“) genannt, er tritt hauptsächlich in Brasilien, aber auch in anderen Ländern Südamerikas auf (Diaz et al, 1989). Der Name Fogo selvagem („wildes Feuer“) leitet sich von den brennenden, schmerzhaften Sensationen ab, von denen die betroffenen Patienten berichten.

Interessanterweise sind fast nur Personen betroffen, die in ländlichen Gebieten, hier besonders in der Nähe von Flüssen, leben und arbeiten. Es wird davon ausgegangen, dass umweltbedingte Faktoren zu einem Ausbruch der Krankheit beitragen, z.B. die Ausbreitung eines infektiösen Agens über Stechmücken (Diaz et al, 1989; Kunte et al, 1997; Lombardi et al, 1992). Bevorzugt sind Landwirte und junge Erwachsene zwischen 20-30 Jahren betroffen, aber auch Kinder können bereits erkranken. Es findet sich eine familiäre Häufung, so dass hier von einer genetischen Disposition ausgegangen wird (Diaz et al, 1989; Kunte et al, 1997). Es wurde eine enge Assoziation mit bestimmten HLA-Allelen, wie DRB1*0404, *1402, *1406, oder *0102 festgestellt (Moraes et al, 1991, 1997).

Der Fogo selvagem lässt sich klinisch und diagnostisch kaum vom PF unterscheiden (Li et al, 2003).

Die **Pathogenese** des PF unterscheidet sich bis auf die fehlende Bildung von Autoantikörpern gegen Dsg3 kaum von der des PV. Beim PF werden nur Autoantikörper gegen Dsg1 gebildet (Emery et al, 1995), die innerhalb der Epidermis zu einer subkornealen Spaltbildung führen. Diese Lokalisation der Spaltbildung ist durch die Expression von Dsg1 innerhalb der Epidermis und der bereits erklärten Kompensationstheorie zu erklären. Die Autoantikörper gegen Dsg1 richten sich, wie bei Dsg3, gegen die aminoterminalen Region der extrazellulären Domäne von Dsg1 (Amagai et al, 1995; Emery et al, 1995; Sekiguchi et al, 2001). In einer aktuell veröffentlichten Studie wird gezeigt, dass die pathogenetisch relevanten Autoantikörper gegen die EC1- und EC2-Domäne des Dsg1 gerichtet sind, während Autoantikörper bei gesunden

Personen, die im Endemiegebiet leben, bzw. Autoantikörper von Patienten mit Fogo selvagem im präklinischen Stadium sich gegen die EC5-Domäne des Dsg1 richten und nicht pathogen sind (Li et al, 2003). Im Rahmen dieser Studie wird die Bedeutung des intramolekularem *epitope spreading* deutlich, da die veränderte Antigenerkennung innerhalb des Dsg1 zum Krankheitsausbruch führt (Li et al, 2003). Autoantikörper gegen Dsg1 sind während der klinisch aktiven Phase meist vom IgG₄-Subtyp (Calvanico et al, 1991; Rock et al, 1989). Entsprechend den Anti-Dsg3-Autoantikörpern beim PV gibt es verschiedene Hinweise auf die Pathogenität dieser Autoantikörper (Amagai et al, 1995; Rock et al, 1989; Roscoe et al, 1985).

Klinisch imponieren schlaffe Blasen der Haut, die aufgrund ihrer Fragilität nur äußerst selten zu sehen sind. Die entstehenden Erosionen sind typischerweise blättereigartig krustös belegt (Braun-Falco et al, 2005). Durch eine exzentrische Ausbreitung der Erosionen kann sich eine sekundäre Erythrodermie ausbilden (Jung und Moll, 2003). Es sind vor allem die seborrhoischen Körperareale betroffen (Hertl und Schuler, 2002a). Im Gegensatz zum PV sind die Schleimhäute immer frei und es kann gelegentlich zu Juckreiz kommen (Braun-Falco et al, 2005).

Die **Diagnostik** des PF stützt sich auf die bereits beim PV aufgeführten Untersuchungsmethoden. Histologisch zeigt sich neben der gelegentlich vorhandenen eosinophilen Spongiose eine intraepidermale subkorneale Spaltbildung (Hertl und Schuler, 2002c). Die Ergebnisse der Immunfluoreszenzuntersuchungen entsprechen denen des PV, im ELISA sind Anti-Dsg1-Autoantikörper nachweisbar. Typische Histologie- und Immunfluoreszenzbefunde sind in Abbildung 1.10. dargestellt.

Die **Therapie** unterscheidet sich nicht wesentlich von der des PV, bei einer geringen Krankheitsaktivität kann allerdings ein Versuch mit Dapson gemacht werden (Hertl und Schuler, 2002c).

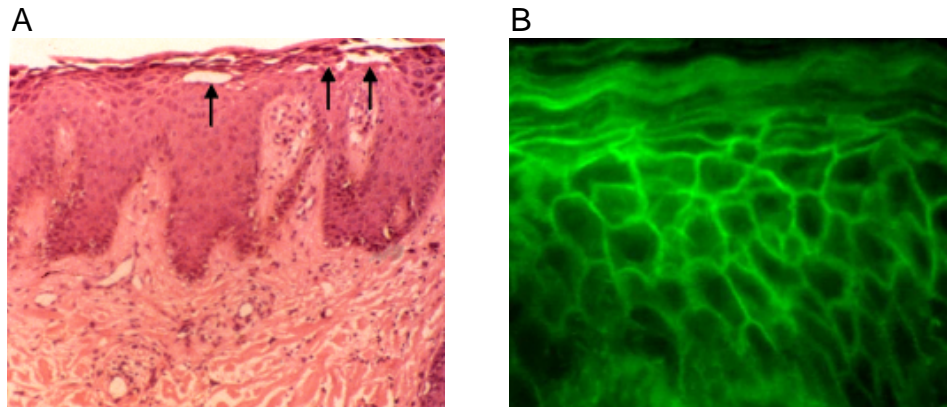


Abb. 1.10.: Histologie (A) und direkte Immunfluoreszenz (B) beim Pemphigus foliaceus.

In der histologischen Untersuchung ist beim Pemphigus foliaceus eine subkorneale Acantholyse der Epidermis erkennbar (Pfeile). Die direkte Immunfluoreszenz zeigt ein typisches interzelluläres, netzartiges Verteilungsmuster durch Darstellung von in vivo an Desmosomen gebundene IgG-Autoantikörper, anhand monoklonaler fluoreszenzmarkierter Anti-IgG-Autoantikörper. (Dermatologische Universitätsklinik Marburg).

1.4 Ziel dieser Arbeit

Bisher gibt es keine einheitlichen Bewertungsmaßstäbe zur Beurteilung der klinischen Aktivität bei bullösen Autoimmundermatosen. Diese sind aber für den objektiven Vergleich der Effektivität von Therapien, z.B. in klinischen, multizentrischen Studien, von großer Wichtigkeit. Nur mit klar definierten Kriterien zur Beschreibung der Krankheitsaktivität können verschiedene Therapien in Studien miteinander verglichen werden. Bystryn und Rudolph, sowie eine internationale Expertengruppe um Dr. Murrell, führen dies sogar als Grund an, warum es bisher nur wenige randomisierte klinische Therapiestudien für den Pemphigus gibt (Bystryn und Rudolph, 2005a; Murrell et al, 2008). Objektive und weit verbreitete Bewertungssysteme sind für viele dermatologische Erkrankungen, wie z.B. für Psoriasis mit dem *Psoriasis Area and Severity Index* (PASI) oder für die atopische Dermatitis (SCORAD (SCORing Atopische Dermatitis) -Score) bereits vorhanden (Berth-Jones et al, 2006; Charman und Williams, 2000; Fredriksson und Pettersson, 1978; Oranje et al, 1997).

Die Quantifizierung der Krankheitsaktivität von bullösen Autoimmundermatosen erfolgt bisher uneinheitlich. Die Einschätzung der Krankheitsaktivität erfolgt neben der Beurteilung klinischer Symptome meist mit Hilfe der Höhe der Autoantikörper, diese korrelieren aber nicht immer mit der Krankheitsaktivität (Harman et al, 2001; Ishii et al, 1997, 2005; Kwon et al, 2008).

Es wurde daher ein neues Score-System entwickelt, der *Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score* (ABSIS), (Pfütze et al, 2007). Der ABSIS berücksichtigt die betroffene Haut- und Schleimhaut in einem speziellen Scoresystem. Zusätzlich werden die Titer der Dsg-reaktiven Autoantikörper und die eingenommene Steroidmenge in eine Datenbank aufgenommen.

Ziel dieser Arbeit ist es nun, den neu entwickelten ABSIS in einer prospektiven Studie an Pemphigus-Patienten zu untersuchen. Die Patienten wurden über 12 Monate im Rahmen der Spezialsprechstunde der Dermatologischen Poliklinik des Universitätsklinikums Marburg untersucht.

Die folgenden Aspekte des ABSIS werden in der vorliegenden Arbeit behandelt

- Ø Wie praktikabel ist der ABSIS im klinischen Alltag?
- Ø Wie entwickeln sich die ABSIS-Parameter im klinischen Verlauf?
- Ø Wie verhalten sich die ABSIS-Parameter im Vergleich zu den Autoantikörpertitern bzw. dem Prednisolonäquivalent?

2 Patienten und Methoden

2.1 Aufbau der Studie

Alle PV- und PF-Patienten, die sich zwischen Oktober 2005 und März 2007 in der Spezialsprechstunde für Autoimmundermatosen des Universitätsklinikums Marburg vorstellten, wurden untersucht und es wurden sowohl klinische als auch laborchemische bzw. immunserologische Parameter aufgenommen.

Während der Sprechstunde wurden die Patienten stets von einem Arzt untersucht, der den ABSIS-Wert erfasste und die weitere Behandlung des Patienten festlegte. Die Patienten wurden je nach klinischem Befund in regelmäßigen Abständen von 4-12 Wochen zur Verlaufskontrolle einbestellt.

Die Patienten wurden über einen Zeitraum von 12 Monaten beobachtet und die Parameter wurden an den folgenden 5 Zeitpunkten aufgenommen:

Zeitpunkt 0: Erster Untersuchungstermin der Patienten (Studienbeginn)

Zeitpunkt 1: 4-6 Wochen nach Zeitpunkt 0

Zeitpunkt 2: 12-14 Wochen nach Zeitpunkt 0

Zeitpunkt 3: 24-26 Wochen nach Zeitpunkt 0

Zeitpunkt 4: 36-38 Wochen nach Zeitpunkt 0

Zeitpunkt 5: 48-50 Wochen nach Zeitpunkt 0

Für die oben genannten Zeitpunkte wurden aus praktischen Gründen variable Zeiträume mit bis zu 14 Tagen eingeräumt.

2.2 Patienten

Das Patientenkollektiv setzte sich zusammen aus den Pemphigus-Patienten, die sich im Zeitraum von Oktober 2005 bis März 2007 regelmäßig zur Behandlung in der Spezialsprechstunde für bullöse Autoimmundermatosen der Poliklinik der Hautklinik des Universitätsklinikums Marburg vorstellten. Die Diagnose „Pemphigus“ wurde bei allen Patienten durch allgemein anerkannte Verfahren, Histologie, DIF und IIF, sowie die Bestimmung der Autoantikörper mittels ELISA, gesichert. In dem o.g. Zeitraum befanden sich insgesamt 21 Pemphigus-Patienten in ambulanter dermatologischer Betreuung. 4 Patienten konnten aufgrund mangelnder Datenlage (z.T. nur einmalige Vorstellung) nicht mit aufgenommen werden, so dass insgesamt 17 Patienten, 15 PV- und 2 PF-

Patienten, in die Studie eingeschlossen wurden. Von diesen 17 Pemphigus-Patienten wurden 9 Patienten über einen Zeitraum von 12 Monaten verfolgt, die anderen sechs Patienten wurden zwischen 1,5 und 9 Monaten beobachtet. Ein Patient verstarb an einer Pemphigus-unabhängigen kardialen Erkrankung vor Beendigung der Studie.

2.3 Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score

Um den klinischen Schweregrad der bullösen Autoimmundermatosen in einem Score-System quantitativ erfassen zu können, sind verschiedene Parameter erforderlich, die die verschiedenen phänotypischen Ausprägungen der Krankheiten berücksichtigen. Beim PF zeigt sich eine reine kutane Manifestation der Läsionen, während Patienten mit PV entweder nur Schleimhautläsionen (mukosaler Typ) oder zusätzlich noch Hautläsionen (mukokutaner Typ) aufweisen. Um diese Pemphigus-Typen und weitere Formen der klinisch heterogen erscheinenden Gruppe der bullösen Autoimmundermatosen erfassen zu können, wurde das Score-System ABSIS entwickelt, das die klinisch wichtigsten Parameter wie Haut-, MSH- und Genitalschleimhautbeteiligung in einem speziellen Score-System erfasst. Ebenso werden die Beteiligung der Anal-, Nasal und Konjunktivalschleimhaut, sowie die Höhe der Autoantikörper aufgenommen. Die Bewertung der drei zuletzt genannten Mukosabeteiligungen erfolgt nach folgenden Kriterien: klinisch erscheinungsfrei, entzündliche, erosive oder vernarbende Läsionen.

Der Score für die Beteiligung der Genitalregion setzt sich zusammen aus den Bewertungen des Vorhandenseins von Läsionen an 8 anatomischen Stellen, wobei eine betroffene Stelle mit 1 und eine nicht betroffene Stelle mit 0 bewertet wird. Die jeweils zu bewerteten Stellen bei der Frau sind: jeweils rechte und linke Labium majus und minus sowie Vagina, beim Mann: Glans penis, Preputium, Penis, rechte und linke Skrotumhälfte. Ein zusätzlicher Punkt wird gegeben, wenn die Patienten Beschwerden während des Sitzens oder Gehens, bei der Miktion oder während des Geschlechtsverkehrs haben. Es ergibt sich eine mögliche Spannbreite des Scores für die Genitalschleimhaut von 0 bis 9 Punkten.

Diese Studie beschränkte sich auf die Score-Parameter der Haut und der MSH, da die klinische Manifestation sich bei den Patienten dieser Studie auf diese

Lokalisationen beschränkte. Eine Genitalschleimhautbeteiligung fand sich nur bei einem der 17 Patienten, so dass auch dieser Parameter nicht mit in die Berechnungen aufgenommen wurde.

Die Bewertungen aller Parameter wurden in die eigens erstellte ABSIS Datenbank, basierend auf Microsoft[®] Access, eingegeben.

2.3.1 Haut-Score

Der Haut-Score setzt sich aus zwei Teilen zusammen:

- 1) Ausmaß der betroffenen Hautareale in Prozent der Körperoberfläche
- 2) Qualität der Läsionen

Das Ausmaß der Hautaffektionen wird mittels der sogenannten „9er-Regel“ eingeschätzt. Bei der „9er-Regel“ wird die Körperoberfläche in Areale eingeteilt, die 9 Prozent oder ein Vielfaches von 9 Prozent entsprechen. Bei Erwachsenen entspricht ein Arm 9 Prozent der Körperoberfläche, ein Bein 18 Prozent, der Rumpf 36 Prozent, der Kopf inklusive Nacken 9 Prozent und das Genital 1 Prozent. Die Handinnenfläche des Patienten entspricht dabei etwa 1 Prozent (s. Abb. 2.1.).

Anhand dieser Regel lässt sich die betroffene Hautoberfläche abschätzen.

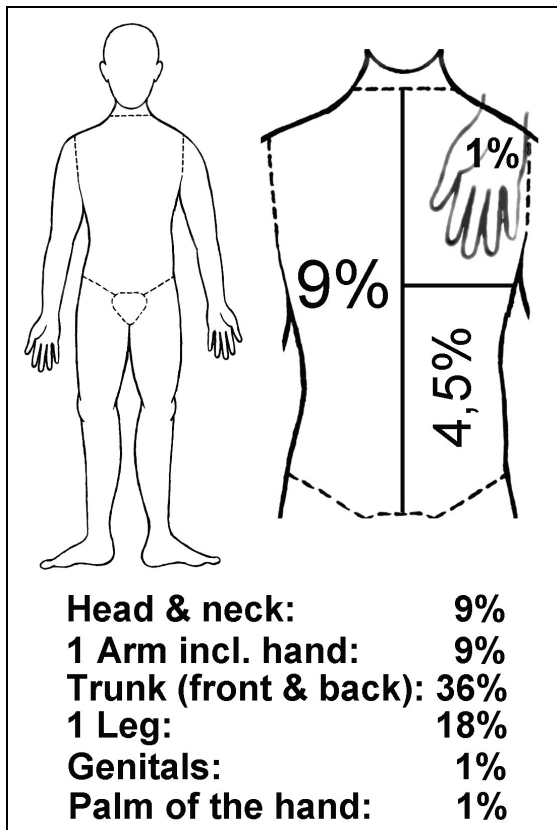


Abb. 2.1.: Darstellung der Abschätzung der betroffenen Hautareale anhand der 9-er Regel (Pfütz et al, 2007)

Zusätzlich wird die Qualität der Läsionen anhand folgender Merkmale bewertet: „erosiv nässend“, „erosiv trocken“ oder „reepithelisiert“. Ist der Hauptteil der betroffenen Hautoberfläche erosiv nässend, entspricht dies dem Wichtungsfaktor 1,5. Für einen Hauptanteil von erosiv trockenen Läsionen wird der Wichtungsfaktor 1,0 eingesetzt und für hauptsächlich reepithelisierte Stellen der Wichtungsfaktor 0,5. Hierbei wurden postinflammatorische Hyperpigmentierungen nicht bewertet, da es sich dabei nicht um aktive Läsionen handelt.

Der Haut-Score setzt sich nun zusammen aus dem Ausmaß der betroffenen Hautareale in Prozent der Körperoberfläche multipliziert mit dem jeweiligen Wichtungsfaktor.

Es ergibt sich dementsprechend ein möglicher Score-Wert von 0 bis 150. Die Abbildung 2.2. zeigt anhand eines Patienten mit mukokutanem PV beispielhaft die Berechnung des ABSIS-Wertes für die Haut.

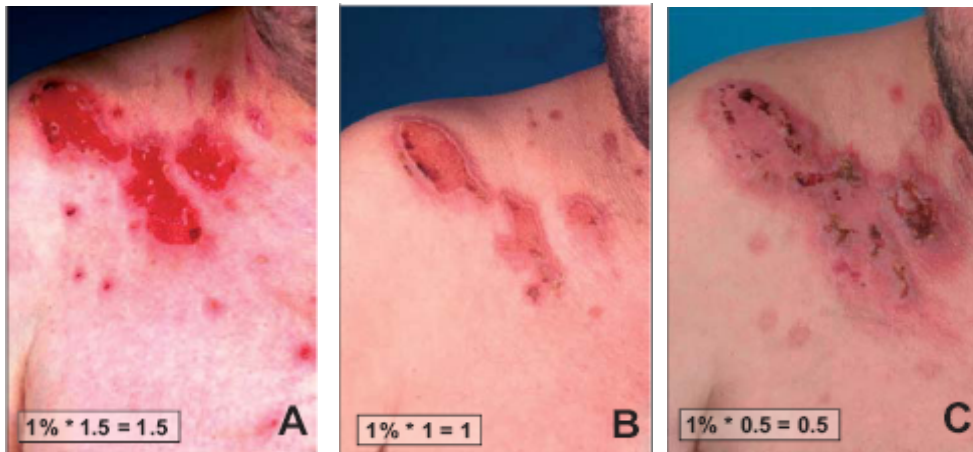


Abb. 2.2.: Beispiel eines ABSIS-Haut-Score-Wertes bei einer betroffenen Körperoberfläche von 1% und einem Hauptanteil von erosiv nässenden Läsionen, also einem Wichtungsfaktor von 1,5 (A), einem Hauptanteil von erosiv trockenen Läsionen, dies entspricht einem Wichtungsfaktor von 1,0 (B) und einer hauptsächlich reepithelisierten Läsion mit einem Wichtungsfaktor von 0,5 (C) (Pfütze et al, 2007).

2.3.2 Mundschleimhaut-Score

Das System für den MSH-Score ist ein modifiziertes System, das bereits von Saraswat und Kumar beschrieben wurde (Saraswat und Kumar, 2003). Es besteht aus zwei getrennten Teilen, wobei der erste sich auf die objektiv sichtbaren Läsionen bezieht und der zweite die subjektiven Einschränkungen der Patienten bei der Nahrungsaufnahme wiedergibt. Der zusätzliche subjektive Parameter ist erforderlich, da gerade Läsionen im Schleimhautbereich zu einer deutlichen Beeinträchtigung der Lebensqualität führen können.

2.3.2.1 Mundschleimhaut-I-Score

Für den MSH-I-Score werden 11 anatomische Regionen im Bereich der Mundhöhle bewertet. Liegen dort Erosionen vor, ergibt dies einen Punktwert von 1, bei klinischer Erscheinungsfreiheit wird jeweils ein Punktwert von 0 vergeben. Die bewerteten Stellen sind: Gingiva des Ober- und Unterkiefers, bukkale Schleimhaut links und rechts, Ober- und Unterlippe, Zunge, Mundboden, harter und weicher Gaumen und Pharynx.

Der MSH-I-Score berücksichtigt lediglich das Vorhandensein von Erosionen an den genannten Lokalisationen, die Größe und Qualität werden nicht bewertet. Auf die Beurteilung der Größe und Qualität wird bewusst verzichtet, da sich dies

im Bereich der Mundhöhle nur sehr schlecht eingrenzen lässt und die klinische Praktikabilität des ABSIS nicht eingeschränkt werden soll.

Addiert man die Bewertungen der einzelnen anatomischen Regionen, ergibt sich ein möglicher Score-Wert von 0 bis 11 für den MSH-I-Score.

2.3.2.2 Mundschleimhaut-II-Score

Dieser Score basiert auf einem System zur Beurteilung dysphagischer Beschwerden von Dakkak und Bennett (Dakkak und Bennett, 1992).

Hierbei wird von den Patienten selbst beurteilt, wie gut sie verschiedene Nahrungsmittel unterschiedlicher Konsistenz (fest, flüssig) zu sich nehmen können. Haben sie bei der Aufnahme nie Schmerzen und/oder Blutungen, ergibt dies den Wichtungsfaktor 0, haben sie gelegentlich Schmerzen und/oder Blutungen, entspricht das dem Wichtungsfaktor 0,5 und haben sie immer Schmerzen und/oder Blutungen, ergibt das den Faktor 1. Die Nahrungsmittel werden in einer Reihenfolge mit zunehmender Konsistenz abgefragt (siehe Tab. 2.1.). Können die Patienten eine Speise überhaupt nicht zu sich nehmen, so werden alle nachfolgenden Speisen auch mit 1 bewertet. Wird z.B. die Frage nach Beschwerden bei der Aufnahme von Weißbrot mit dem Faktor 1 bewertet, so werden die Speisen Apfel bzw. gebratenes Fleisch automatisch mit 1 bewertet.

Der Score setzt sich dann zusammen aus den Bewertungen der Patienten multipliziert mit einem speisespezifischen Wert (siehe Tab. 2.1.).

Daraus ergeben sich mögliche Score-Werte von 0 bis 45.

Der gesamte MSH-Score wird dann folgendermaßen beschrieben: 0-11/ 0-45, wobei der erste Wert den MSH-I-Score darstellt und der zweite Wert den MSH-II-Score.

<u>Speisespezifische Werte:</u>		
Wasser		(1 * x)
Suppe		(2 * x)
Joghurt		(3 * x)
Pudding		(4 * x)
Kartoffelbrei/Rührei		(5 * x)
Gebackener Fisch		(6 * x)
Weißbrot		(7 * x)
Apfel/rohe Karotten		(8 * x)
Fleisch/Graubrot	+	(9 * x)
Score		

Tab. 2.1.: Mundschleimhaut-II-Score; x für die Bewertung der Patienten, x = 1, wenn immer Schmerzen/Blutungen, x = 0,5, wenn gelegentlich Schmerzen/Blutungen und x = 0, wenn nie Schmerzen/Blutungen bei der Aufnahme des jeweiligen Nahrungsmittels; x wird mit dem nahrungsspezifischen Wichtungsfaktor multipliziert, diese Werte werden dann addiert und ergeben den Mundschleimhaut-II-Score.

2.4 Autoantikörper (ELISA-Diagnostik)

Bei jedem Untersuchungstermin werden die Höhe der Anti-Dsg1- und Anti-Dsg3-Autoantikörpertiter bestimmt, diese werden anhand eines speziellen, kommerziell erhältlichen, ELISA (MBL, Tokyo, Japan) ermittelt. Dargestellt werden die ELISA-Werte anhand des Protein Index Value (PIV), der folgendermaßen berechnet wird:

$$\frac{\text{optische Dichte (OD) des getesteten Serums} - \text{OD der neg. Kontrolle}}{(\text{OD der pos. Kontrolle} - \text{OD der neg. Kontrolle}) \times 100}$$

ELISA-Werte von unter 20 [PIV] für Dsg1 und 3 gelten als negativ bzw. als Normalwert.

2.5 Prednisolonäquivalent

Die zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten eingenommene systemische Kortikoiddosierung wird aufgenommen. Um dies interindividuell besser vergleichen zu können, erfolgt eine Umrechnung in die äquivalente Prednisolondosis, angegeben in mg/kg/Körpergewicht (KG)/Tag (d).

2.6 Statistik

Es werden folgende klinische Daten und Laborparameter an vorgegebenen Untersuchungszeitpunkten von den jeweiligen Patienten aufgenommen: ABSIS-Haut-Wert, ABSIS-MSH-I-Wert, ABSIS-MSH-II-Wert, die systemische Kortikosteroiddosierung und die Höhe der Anti-Dsg1- und Anti-Dsg3-Autoantikörper. Die unterschiedlichen Score-Parameter werden zueinander in Beziehung gesetzt und zwar der ABSIS-Wert für die Haut mit den Anti-Dsg1-Autoantikörpern, die beiden ABSIS-MSH-Werte jeweils mit den Anti-Dsg3-Autoantikörpern, sowie die beiden ABSIS-MSH-Werte untereinander, und alle ABSIS-Werte jeweils mit dem Prednisolonäquivalent. Alle Parameter aller Patienten über den gesamten Zeitraum werden deskriptiv beschrieben, die Berechnung eines Korrelationskoeffizienten ist dabei aus statistischer Sicht nicht zulässig, da es sich um voneinander abhängige Daten handelt.

Der Verlauf der einzelnen Parameter wird anhand von Boxplots dargestellt. Die „Box“ stellt 50% der Werte dar, der Querbalken markiert den Medianwert und der obere bzw. untere „Whisker“ repräsentiert jeweils 25% der Werte. Ein Ausreißer wird mit einem Kreis dargestellt und ist definiert als ein Wert, der $>1,5$ Boxlängen von der Box entfernt liegt, ein Extremwert liegt dagegen >3 Boxlängen von der Box entfernt und wird mit einem Sternchen gekennzeichnet. Die Berechnung der Signifikanzen der einzelnen Parameter erfolgt primär mit einem Omnibus-Test, dem Friedman-Test. Weist dieser Test eine Signifikanz von $p < 0,05$ auf, wird danach ein paarweiser Vergleich anhand des Wilcoxon-Tests durchgeführt, auch hier wird ein Wert von $p < 0,05$ als statistisch signifikant angesehen.

Alle Berechnungen und grafischen Darstellungen wurden mit Hilfe von Microsoft® Excel und SPSS 12.0® erstellt.

3 Ergebnisse

3.1 Klinische und serologische Charakterisierung des Patientenkollektivs

Im Zeitraum von Oktober 2005 bis März 2007 befanden sich insgesamt 21 Pemphigus-Patienten in ambulanter dermatologischer Betreuung. 4 Patienten konnten aufgrund mangelnder Datenlage (z. T. nur einmalige Vorstellung) nicht in die vorliegende Studie mit aufgenommen werden, so dass insgesamt 17 Patienten, 15 PV- und 2 PF-Patienten, in die Studie eingeschlossen wurden. Die beiden an PF erkrankten Patienten waren weiblich, bei den PV-Patienten waren 5 Patienten männlich, 10 Patienten weiblich.

Das Durchschnittsalter aller Patienten betrug $54,2 \pm 18,6$ Jahre, das der an PV erkrankten Patienten betrug $55,2 \pm 18,4$ Jahre und das der PF-Patienten betrug $46,7 \pm 25,8$ Jahre.

Der Median der Dsg1-spezifischen Autoantikörper zum Zeitpunkt 0 lag bei 69 [PIV] (0 – 849 [PIV]) (Angabe: Median (Range: kleinster – größter Wert)) innerhalb der PV-Patientengruppe und bei 136,5 [PIV] (115 – 158 [PIV]) innerhalb der PF-Patientengruppe. Zum Zeitpunkt 0 lag der Median der Anti-Dsg3-Autoantikörper bei den PF-Patienten mit 6 [PIV] unter dem Cut-Off-Wert von 20 [PIV]. Der Anti-Dsg3-Autoantikörper-Wert bei den PV-Patienten betrug am Zeitpunkt 0 245 [PIV] (34 – 2958 [PIV]). Weitere Angaben zum Patientenkollektiv der Studie sind den Tabellen 3.1. und 3.2. zu entnehmen.

Diagnose	Patienten	männlich/ weiblich	Alter [Jahre] Zeitpunkt 0	Median Anti- Dsg1-IgG [PIV] Zeitpunkt 0	Median Anti- Dsg3-IgG [PIV] Zeitpunkt 0	Median Prednisolon- äquivalent [mg/kgKG/d] Zeitpunkt 0	Adjuvante Therapien Zeitpunkt 0
PV	15	5/10	55 ± 18	69 (0-849)	245 (34-2958)	0,30 (0-1,74)	MMF, Aza, Dapson, IVIG
PF	2	0/2	47 ± 26	136,5 (115-158)	6 (3-9)	0,08 (0-0,17)	MMF, Aza

Tabelle 3.1.: Übersicht des Patientenkollektivs. Angabe Median (kleinster – größter Wert). Angabe Alter in Mittelwert \pm Standardabweichung; PV = Pemphigus vulgaris; PF = Pemphigus foliaceus; Dsg = Desmoglein; IgG = Immunglobulin G; PIV = Protein Index Value; MMF = Mycophenolatmofetil; Aza = Azathioprin; IVIG = intravenöse Immunglobuline.

	Pemphigus- typ	Geschlecht	Alter [Jahre] Zeitpunkt 0	Klinik	Anti-Dsg1-IgG [PIV] Zeitpunkt 0	Anti-Dsg3-IgG [PIV] Zeitpunkt 0	Prednisolon- äquivalent [mg/kgKG/d] Zeitpunkt 0	Adjuvante Therapien (Angabe in Tagesdosen g bzw. mg/d) Zeitpunkt 0
Patient 1	PV	m	50	mc	85	1138	0,79	2 g MMF
Patient 2	PV	w	50	m	1	103	0,75	3 g MMF
Patient 5	PV	w	43	mc	69	2763	0,17	0,5 g MMF
Patient 6	PV	m	48	mc	819	696	1,00	50 mg Azathioprin
Patient 7	PV	w	61	mc	150	214	1,19	3 g MMF
Patient 8	PV	m	36	mc	498	245	1,74	2 g MMF; IVIG
Patient 9	PV	w	23	c	112	135	0,52	3 g MMF; 50 mg Dapson
Patient 10	PV	w	65	m	4	94	0,00	keine
Patient 12	PV	w	87	c	849	100	1,17	keine
Patient 14	PV	m	53	c	15	159	0,16	2 g MMF
Patient 15	PF	w	28	c	158	3	0,00	100 mg Azathioprin
Patient 16	PF	w	64	c	115	9	0,17	50 mg Azathioprin
Patient 17	PV	m	67	m	6	538	0,00	1 g MMF
Patient 18	PV	w	69	c	98	2958	0,30	150 mg Azathioprin
Patient 19	PV	w	69	m	1	1500	0,16	keine
Patient 20	PV	w	76	c	0	34	0,13	100 mg Azathioprin
Patient 21	PV	w	23	m	15	330	0,30	100 mg Azathioprin

Tabelle 3.2.: Detaillierte Darstellung der individuellen Patientendaten. m = männlich; w = weiblich; m = mucosal; mc = mucocutan; c = cutan.

Insgesamt konnten 9 der 17 Patienten bis zum Zeitpunkt 5, also 12 Monate lang, beobachtet werden, während die Daten der übrigen Patienten 1,5 bis 9 Monate lang aufgenommen wurden. Die genaue Darstellung der Anzahl der Patienten zu den jeweiligen Zeitpunkten zeigt Tabelle 3.3.. Der kürzere Beobachtungszeitraum bei einigen Patienten ergab sich aus der Tatsache, dass sie entweder erst bei fortgeschrittener Studiendauer erstmalig untersucht wurden oder nur unregelmäßig die entsprechenden Untersuchungszeitpunkte wahrgenommen haben. Patient 6 ist im Laufe der Studie an einer kardialen Grunderkrankung gestorben.

	ZP 0	ZP 1	ZP 2	ZP 3	ZP 4	ZP 5
Haut- Score	n =17	14	15	13	9	9
MSH-I- Score	n =17	14	15	13	9	9
MSH-II- Score	n =16	14	15	13	8	9
Anti-Dsg1-IgG	n =17	14	15	13	9	9
Anti-Dsg3-IgG	n =17	14	15	13	9	9
Prednisolonäquivalent	n =17	14	15	13	9	9

Tabelle 3.3.: Anzahl der Patienten (=n) an den jeweiligen Zeitpunkten (ZP). MSH = Mundschleimhaut;

3.2 Darstellung der einzelnen Parameter

3.2.1 ABSIS: Haut- Score

Die Abbildung 3.1. zeigt die Veränderung der ABSIS-Werte für die Körperoberfläche zu den jeweiligen Zeitpunkten anhand eines Boxplots, wobei in (A) alle Patienten und in (B) nur die Patienten mit Hautbeteiligung, also mit kutanem oder mukokutanem Pemphigus, berücksichtigt sind.

Der ABSIS-Wert lag zu Beginn der Studie bei einem Median von 1 Punkt für alle Patienten und einem Median von 3 Punkten für die Patienten mit Hautbeteiligung, allerdings mit einem weiten Range bei beiden Gruppen von 0 bis 91,5 Punkten. Nach 12 Monaten sind der Median und der Range beider Gruppen auf 0 Punkte zurückgegangen. Alle Patienten befanden sich also bezüglich der kutanen Beteiligung in klinischer Abheilung.

Anhand der Abbildung 3.1. lässt sich ebenfalls sehr gut erkennen, dass der Abfall der Scorewerte besonders zu Studienbeginn ausgeprägt ist, was auf eine initial intensivierte Therapie zurückzuführen ist.

Im Zeitverlauf zeigte sich eine Signifikanz für die Abnahme der Scorewerte von $p=0,054$ für den Zeitpunkt 0 bis Zeitpunkt 5 nach Friedman. Die Grenze von $p<0,05$ war somit nicht erfüllt und die weitere statistische Berechnung nach Wilcoxon konnte nicht durchgeführt werden.

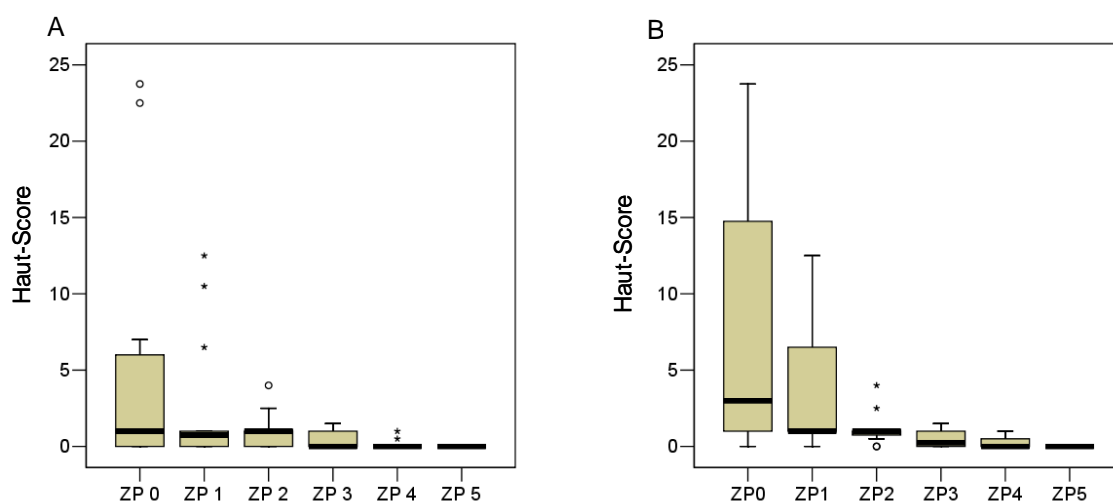


Abb. 3.1.: ABSIS-Haut-Score im Zeitverlauf. A: alle Patienten; B: nur für Patienten mit Hautbeteiligung. Zur besseren Darstellung ist jeweils an Zeitpunkt (=ZP) 0 ein Extremwert von 91,5 Punkten nicht abgebildet.

3.2.2 ABSIS: Mundschleimhaut- Scores

Bei dem vom untersuchenden Arzt objektiv bewerteten MSH-I-Score ließ sich ein deutlicher Rückgang verzeichnen, von einem Median von 1 Punkt (Range von 0-8 Punkten) für alle Patienten und einem Median von 4 Punkten (Range von 0-8 Punkten) für die Patienten mit MSH-Beteiligung, auf einen Median von 0 Punkten mit einem Range von 0 bis 4 Punkten für beide Patientengruppen nach 12 Monaten. Eine vollständige klinische Remission konnte nicht bei allen Patienten im Beobachtungszeitraum erzielt werden. Den Verlauf der MSH-I-Score-Werte im Zeitverlauf zeigt die Abbildung 3.2. für alle Patienten (A) und nur für die Patienten, die eine mukosale Beteiligung aufweisen (B).

Der Median und der Range des MSH-II-Scorewertes lagen am Ende der Studie ebenfalls bei 0 Punkten, d.h. alle Patienten waren bezüglich der schmerzhaft eingeschränkten Nahrungsaufnahme beschwerdefrei. Zu Beginn der Studie lag der Median des MSH-II-Scorewertes aller Patienten zwar auch bei 0 Punkten, aber mit einem Range von 0 bis 44,5 Punkten. Auffällig war hier der extreme Abfall von Zeitpunkt 0 auf Zeitpunkt 1. Nach Zeitpunkt 1 waren bis auf wenige Ausnahmen alle Patienten subjektiv beschwerdefrei (s. Abb. 3.3.A). Dieser Abfall war innerhalb der Gruppe der Patienten mit mukosaler Beteiligung etwas schwächer ausgeprägt, ließ sich aber auch hier erkennen, insbesondere bei der Betrachtung des Median-Wertes, der von einem Wert von 10 Punkten an Zeitpunkt 0 auf den Wert von 0 Punkten ab Zeitpunkt 1 fiel (s. Abb. 3.3.B).

Die Berechnung der Signifikanzen nach Friedman ergab bei dem MSH-I-Score einen p-Wert von 0,051 und bei dem MSH-II-Score einen p-Wert von 0,092, so dass bei beiden Parametern die Signifikanz nach Wilcoxon nicht berechnet werden konnte.

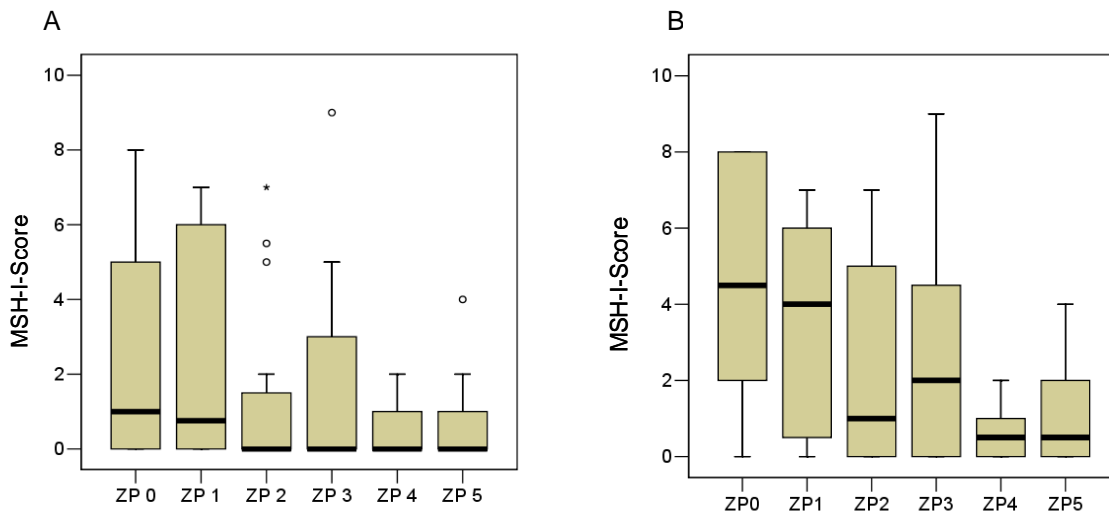


Abb. 3.2.: ABSIS-MSH-I-Score im Zeitverlauf. A: alle Patienten; B: nur die Patienten mit MSH-Beteiligung; ZP = Zeitpunkt.

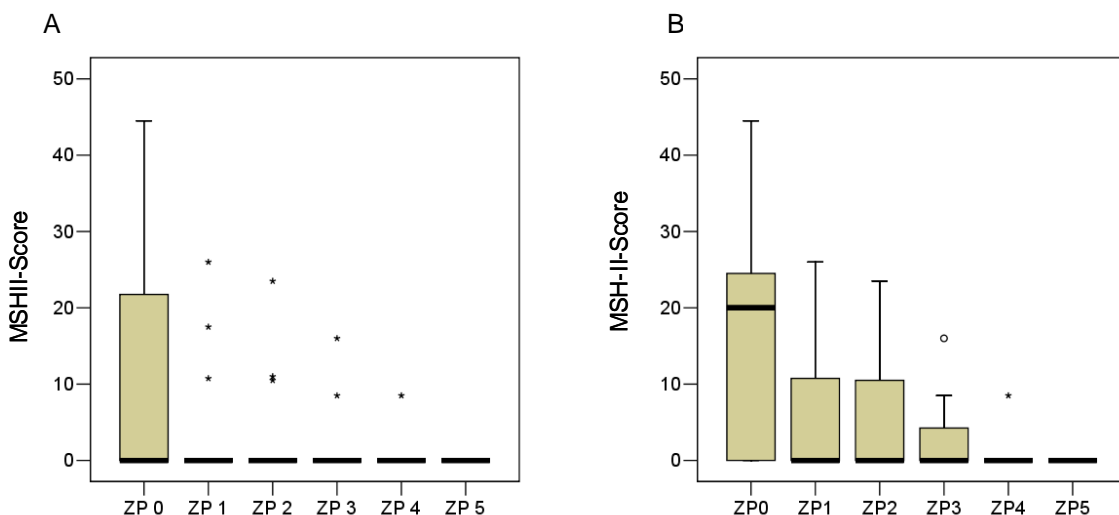


Abb. 3.3.: ABSIS-MSH-II-Score im Zeitverlauf. A: alle Patienten, B: nur Patienten mit MSH-Beteiligung; ZP = Zeitpunkt

3.2.3 Autoantikörper

Die Autoantikörper gegen Dsg1 und Dsg3 wurden mit Hilfe eines ELISA (MBL, Tokyo, Japan) bestimmt. Der Verlauf der Anti-Dsg1- und Anti-Dsg3-IgG ist in den Abbildungen 3.4. bzw. 3.5. dargestellt. Die Dsg1-spezifischen Autoantikörper lagen zu Beginn bei einem Medianwert von 85 [PIV], mit einem Range von 0 bis 849 [PIV] und zum Schluss im negativen Bereich mit 3 [PIV] (0-17 [PIV]). Die Höhe der Autoantikörper gegen Dsg3 nahmen von einem Medianwert von 214 [PIV] (0-2958 [PIV]) zum Zeitpunkt 0 auf einen Wert von 108 [PIV]

(0-1000 [PIV]) ab. Es zeigte sich im Zeitverlauf eine Signifikanz nach Friedman von 0,006 für Dsg1-spezifische Autoantikörper und von 0,434 für Anti-Dsg3-IgG. Die Signifikanzen für die paarweise Berechnung nach Wilcoxon sind in der Abbildung 3.4. als p-Werte angegeben.

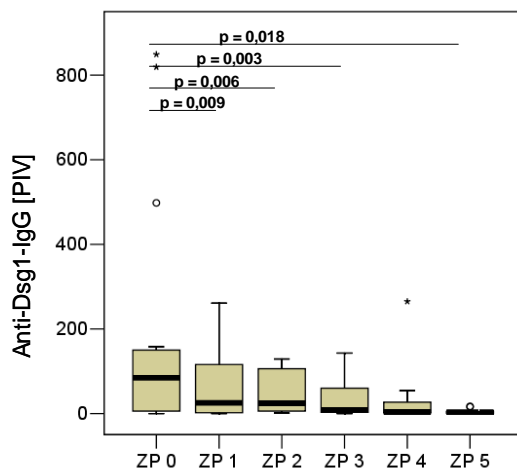


Abb. 3.4.: Anti-Dsg1-IgG im Zeitverlauf; ZP = Zeitpunkt

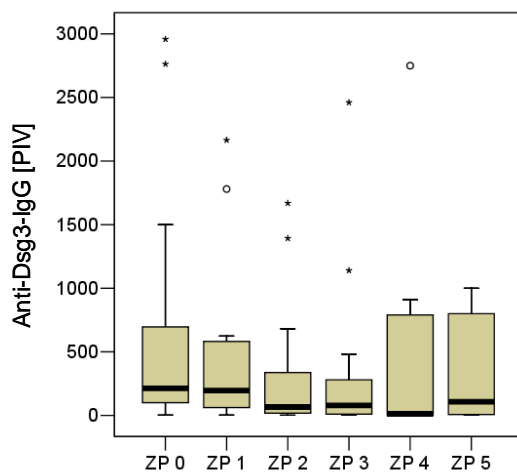


Abb. 3.5.: Anti-Dsg3-IgG im Zeitverlauf; ZP = Zeitpunkt

Abbildung 3.5. zeigt, dass die Autoantikörper gegen Dsg3 zum Zeitpunkt 4 sogar wieder gering anstiegen. Dies lässt sich möglicherweise mit einer abnehmenden Anzahl von Patienten (13 Patienten an Zeitpunkt 3 und 9 Patienten an Zeitpunkt 4, s. Tabelle 3.3.) und persistierenden Autoantikörpertitern der untersuchten Patienten erklären. Deutlich wird dies, wenn man die Patienten in zwei Gruppen einteilt, wobei die eine Gruppe aus den Patienten

besteht, die über den gesamten Zeitraum beobachtet wurden, und die andere Gruppe aus den Patienten, deren Beobachtung über einen kürzeren Zeitraum, d.h. weniger als 12 Monate, verlief, und die Medianwerte dieser Gruppen miteinander vergleicht: Die Medianwerte der ersten Gruppe liegen an Zeitpunkt 0 bei 245 [PIV], an Zeitpunkt 4 bei 180 [PIV] und an Zeitpunkt 5 bei 108 [PIV], wohingegen die Medianwerte der zweiten Gruppe an allen Zeitpunkten deutlich niedriger liegen, an Zeitpunkt 0 bei 157 [PIV] und an Zeitpunkt 4 bei 3,5 [PIV] (s. Tab. 3.4.). Die Patienten, die bis zum Ende beobachtet wurden, hatten im Durchschnitt höhere Anti-Dsg3-IgG-Titer, was natürlich besonders dann bedeutsam ist, wenn hauptsächlich nur noch Patienten dieser Gruppe an Zeitpunkt 4 und 5 beobachtet wurden.

Zeitpunkt	Median Anti-Dsg3-IgG [PIV] Gruppe "Beobachtung 12 Monate"	Median Anti-Dsg3-IgG [PIV] Gruppe "Beobachtung < 12 Monate"
0	245 (34;2763)	157 (3;2958)
1	246 (62;624)	143 (3;2165)
2	193 (26;1393)	10 (2;1669)
3	132 (8;2461)	42,5 (4;165)
4	180 (3;2750)	3,5 (3;4)
5	108 (2;1000)	

Tab. 3.4.: Subgruppenanalyse der Anti-Dsg3-IgG im Zeitverlauf. Angabe Median (kleinster; größter Wert). Einteilung nach Patienten, die 12 Monate beobachtet wurden (Gruppe „Beobachtung 12 Monate“), und Patienten, die über einen kürzeren Zeitraum beobachtet wurden (Gruppe „Beobachtung < 12 Monate“)

3.2.4 Prednisolonäquivalent

Die Dosierung der systemischen Prednisolonmedikation (Prednisolonäquivalent pro kgKG/d) wurde als zusätzlicher Parameter zur Bestimmung der Krankheitsaktivität eingesetzt. Adjuvante immunsuppressive Medikation, wie z.B. Azathioprin, MMF, Dapson, Rituximab oder IA blieben diesbezüglich unberücksichtigt.

Auch hier ließ sich im Laufe der Studie ein deutlicher Rückgang von Median-Ausgangswerten von 0,30 mg/kgKG/d (0-1,74 mg/kgKG/d) bis hin zu Endwerten von 0,06 mg/kgKG/d (0-0,08 mg/kgKG/d) feststellen (s. Abb. 3.6.).

Die Berechnung der Signifikanz nach Friedman zeigte einen p-Wert von 0,008, so dass die paarweise Signifikanzberechnung nach Wilcoxon durchgeführt

werden konnte. Die Signifikanzen nach Wilcoxon sind als p-Werte in der Abbildung 3.6. angegeben.

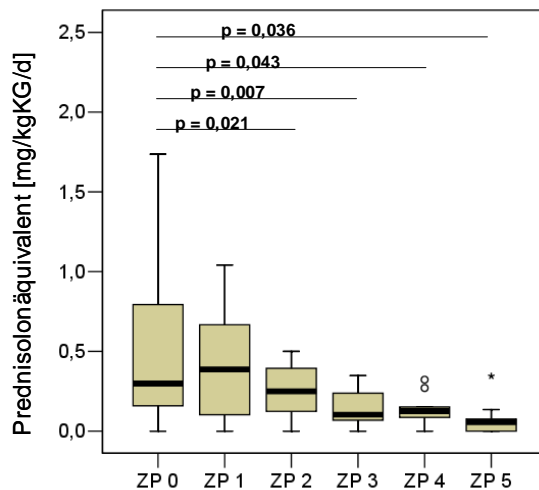


Abb. 3.6.: Prednisolonäquivalent im Zeitverlauf; ZP = Zeitpunkt.

3.3 Individuelle Patientenverläufe

Betrachtet man die Werte der einzelnen Parameter im Zeitverlauf, so fällt auf, dass die meisten Parameter im Beobachtungszeitraum abnehmen. Die Medianwerte aller Parameter, mit Ausnahme des Medians der Dsg3-spezifischen Autoantikörper, fielen im Zeitverlauf kontinuierlich ab. Die Anti-Dsg3-Autoantikörper wiesen zum Zeitpunkt 5 immer noch deutlich positive Medianwerte auf, obwohl die korrespondierenden Schleimhautläsionen deutlich zurückgegangen sind. Dies ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass einige Patienten zwar eine klinische Verbesserung der Schleimhautläsionen zeigten, ihre Dsg3-reaktiven Autoantikörper aber erhöht blieben, dementsprechende Beispiele repräsentativer Patienten werden im Abschnitt 3.3.2. dargestellt. Daneben gab es aber auch Patienten, bei denen das klinische Bild mit der Höhe der Dsg-spezifischen Autoantikörper gut korrelierte, wie die Beispiele im Abschnitt 3.3.1. zeigen.

3.3.1 Beispiele für parallele Verläufe von ABSIS-Parametern und Autoantikörpertitern

Bei Patient 1 handelte es sich um einen männlichen Patienten mit mukosal dominierenden Läsionen. Zum Zeitpunkt 0 wurde er mit 0,79 mg/kgKG/d Kortikosteroid und mit 2 g MMF behandelt. Er präsentierte sich zu Beginn der Studie mit einem ABSIS-Haut-Score-Wert von 1, der bis zum Zeitpunkt 4 unverändert blieb, an Zeitpunkt 5 waren die Läsionen der Haut nicht mehr vorhanden. Der MSH-Score betrug zu Beginn 8/20 und nahm bis zum Ende der Studie auf 1/0 ab. Die Dsg1-spezifischen Autoantikörper waren zu Beginn mit einem Wert von 85 [PIV] positiv, an Zeitpunkt 5 lagen sie unterhalb der Cut-Off-Grenze. Die Dsg3-reaktiven Autoantikörper blieben am Ende der Studie zwar noch erhöht (108 [PIV]), lagen aber deutlich unter dem Ausgangswert von 1138 [PIV]. Die Abbildung 3.7. zeigt, dass die ABSIS-Parameter parallel zu den Autoantikörpertitern verliefen, auch wenn die Dsg3-reaktiven Autoantikörper an Zeitpunkt 5 noch immer positiv waren. Die Werte des Haut-Scores blieben zwar verglichen mit den Anti-Dsg1-Autoantikörpertitern länger erhöht, allerdings auf einem niedrigen Niveau von 1 Punkt, an Zeitpunkt 5 ist der Haut-Score dann auf 0 Punkte abgesunken (s. Abbildung 3.8.).

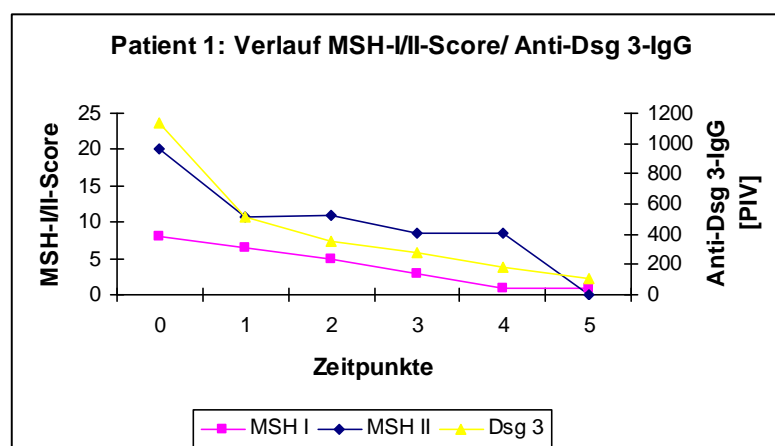


Abb. 3.7.: Verlauf ABSIS-MSH-Scores/Anti-Dsg3-IgG bei Patient 1.

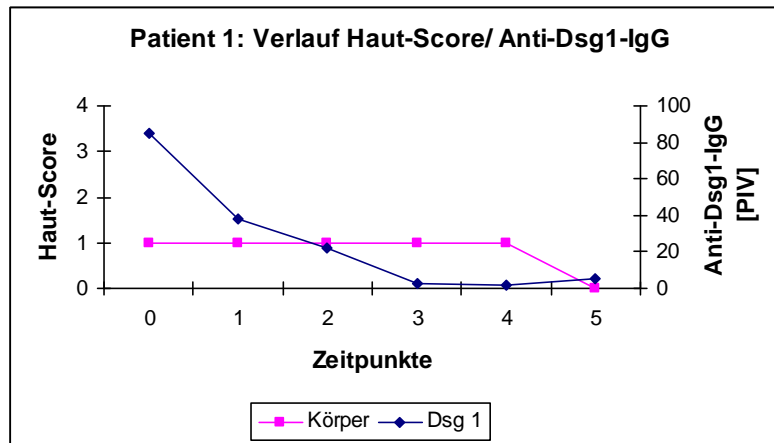


Abb. 3.8.: Verlauf ABSIS-Haut-Score/Anti-Dsg1-IgG bei Patient 1.

Ähnliche Verläufe waren bei Patient 2 zu erkennen, einer weiblichen Patientin mit rein mukosalem PV. Zu Beginn der Studie lagen die MSH-Werte bei 8/24,5, zum Ende der Studie bei 2/0, parallel zur klinischen Remission nahmen die Dsg3-reaktiven Autoantikörper von einem Anfangswert von 103 [PIV] auf einen negativen Wert von 2 [PIV] ab (s. Abb. 3.9.). Interessant war hier die unterschiedliche Höhe der Anti-Dsg3-Autoantikörper von 1138 [PIV] bei Patient 1 zu 103 [PIV] bei Patient 2 bei annähernd gleichen MSH-Scores. Die Dsg1-spezifischen Autoantikörper waren bei Patient 2, wie bei fehlenden Hautläsionen zu erwarten, negativ.

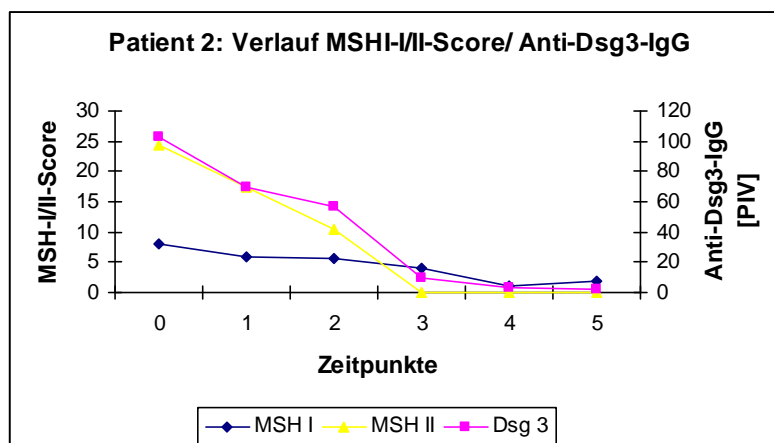


Abb. 3.9.: Verlauf ABSIS-MSH-Scores/Anti-Dsg3-IgG bei Patient 2.

3.3.2 Beispiele für persistierende Autoantikörper trotz klinischer Remission

Es gab einige Patienten, die trotz geringer klinischer Befunde bzw. trotz deutlicher Remission erhöhte Autoantikörpertiter hatten. Die Abbildung 3.10. zeigt den Verlauf der MSH-Werte und der Dsg3-spezifischen Autoantikörper bei Patient 17, einem männlichen Patienten mit mukosalem PV. Hier ist gut zu erkennen, dass die Scorewerte bis auf einen MSH-Wert von 1/0 an Zeitpunkt 0 alle bei 0 lagen, während die Anti-Dsg3-Autoantikörper mit Werten von 246 bis 800 [PIV] während des gesamten Beobachtungszeitraums deutlich erhöht waren.

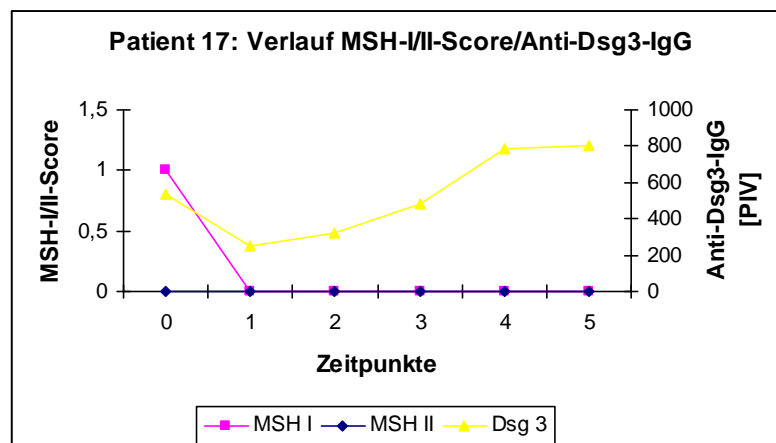


Abb. 3.10.: Verlauf ABSIS-MSH-Scores/Anti-Dsg3-IgG bei Patient 17.

Auch der Verlauf der MSH-Werte im Vergleich zu den Anti-Dsg3-Autoantikörpertitern bei Patient 21, einer weiblichen Patientin mit einem mukosalem PV, zeigte ein ähnliches Bild (s. Abb. 3.11.). Auch hier lagen die ABSIS-Werte für die MSH bis auf eine Ausnahme von 1/0 an Zeitpunkt 2 bei einem Wert von 0, während die Dsg3-reaktiven IgG von Zeitpunkt 1 bis Zeitpunkt 5 anstiegen.

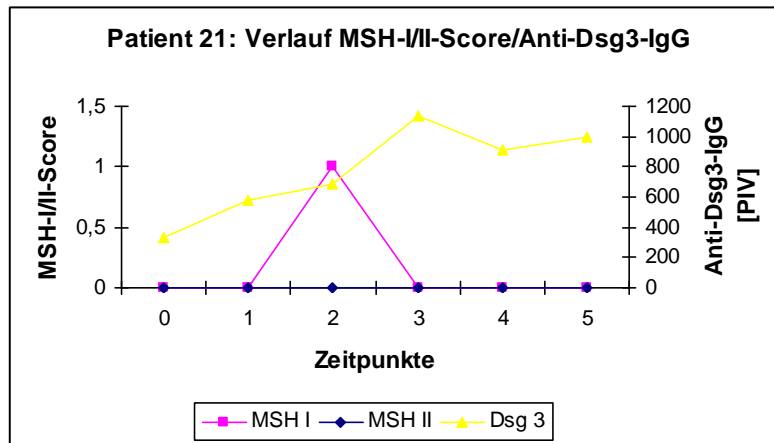


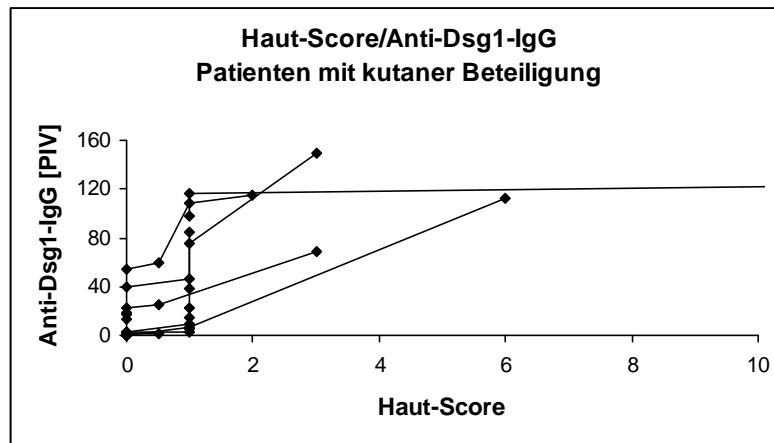
Abb. 3.11.: Verlauf ABSIS-MSH-Scores/Anti-Dsg3-IgG bei Patient 21.

3.4 Zusammenhänge der ABSIS-Parameter mit den Autoantikörpern und dem Prednisolonäquivalent

Bei der grafischen Darstellung der Korrelationen der ABSIS-Parameter mit den Autoantikörpern und dem Prednisolonäquivalent repräsentiert eine Linie jeweils die Werte eines Patienten zu den verschiedenen Zeitpunkten. Hierbei ist nur eine generelle Aussage über die Beziehungen der beiden untersuchten Parameter und nicht über den zeitlichen Verlauf möglich.

Die Abbildung 3.12. zeigt die Zusammenhänge für die Parameter ABSIS-Haut-Score und die Dsg1-spezifischen Autoantikörper für die Patienten mit einer Hautbeteiligung. Es ließ sich ein positiver Zusammenhang zwischen diesen beiden Werten feststellen, d.h. je höher die Anti-Dsg1-Autoantikörper bei dem einzelnen Patienten waren, desto höher war auch sein ABSIS-Haut-Score. Um dies grafisch besser darzustellen, wurden die Patienten in zwei Gruppen, jeweils mit Anti-Dsg1-IgG größer oder kleiner 200 [PIV], eingeteilt. (s. Abb. 3.12.).

A



B

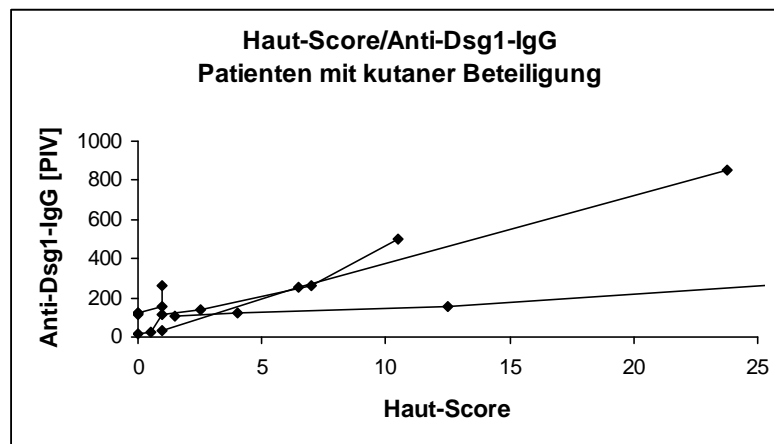
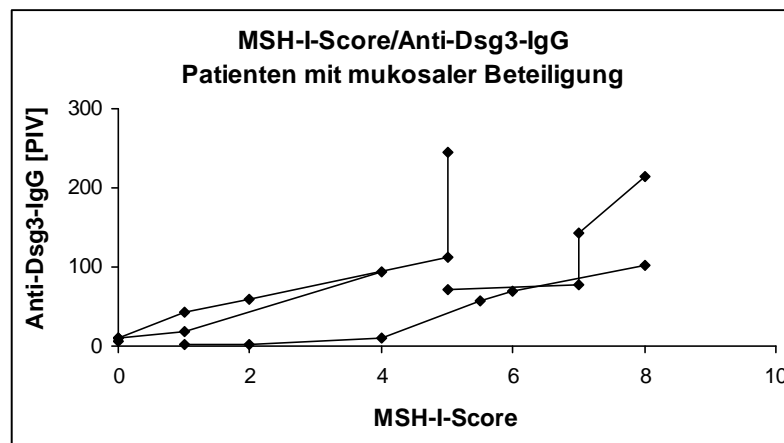


Abb. 3.12.: Korrelation ABSIS-Haut-Score/Anti-Dsg1-IgG. Zur besseren grafischen Darstellung wurden die Patienten mit kutaner Beteiligung und einem Anti-Dsg1-IgG-Titer von <200 [PIV] in Grafik A dargestellt und die Patienten mit Anti-Dsg1-IgG >200 [PIV] in Grafik B. In Grafik B ist ein Wert (ABSIS-Haut-Score = 91,5 Punkte; Anti-Dsg1-IgG = 819 [PIV]) und in Grafik A ein Wert (ABSIS-Haut-Score = 22,5; Anti-Dsg1-IgG = [98 PIV]) nicht mit abgebildet worden, erkennbar an den Linien ohne Abschlusspunkt.

Die Korrelation war bei dem MSH-I-Score und den Anti-Dsg3-Autoantikörpern weniger stark ausgeprägt (s. Abb. 3.13.), neben den Patienten, deren Autoantikörpertiter positiv mit der Höhe des MSH-I-Scores korrelierten, gab es auch einige Patienten mit einem MSH-I-Punktwert von 0, aber hohen Dsg3-Autoantikörpertitern. Auch hier wurden zur besseren grafischen Darstellung zwei Abbildungen gewählt, unterteilt nach Höhe der Anti-Dsg3-IgG-Titer (s. Abb. 3.13.).

A



B

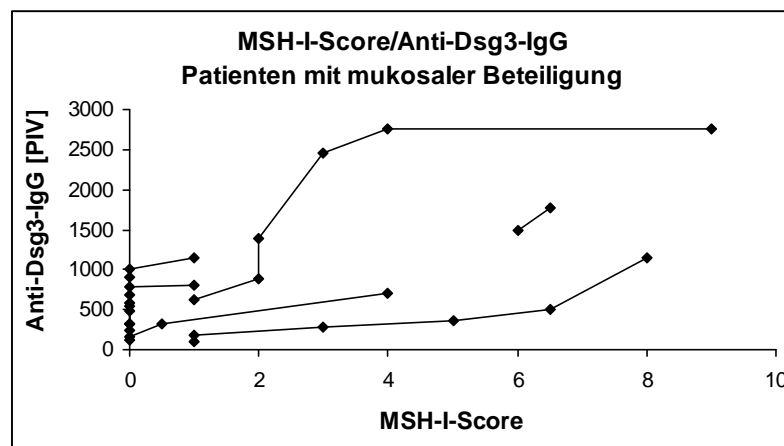
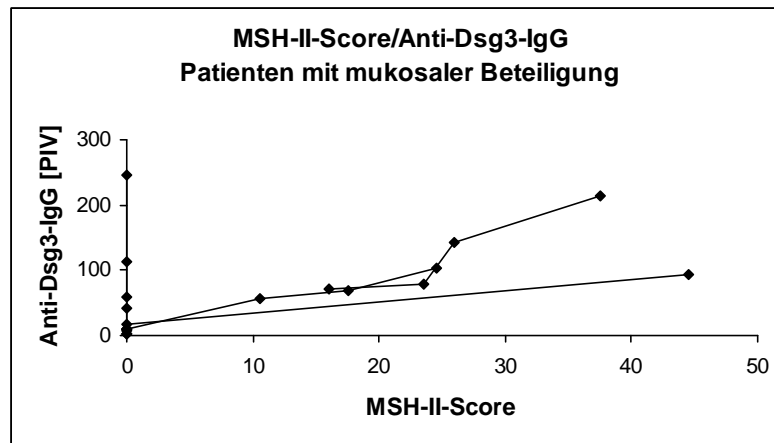


Abb. 3.13.: Korrelation ABSIS-MSH-I-Score/Anti-Dsg3-IgG. Zur besseren grafischen Darstellung wurden die Patienten mit mukosaler Beteiligung und einem Anti-Dsg3-IgG-Titer von <600 [PIV] in Grafik A dargestellt und die Patienten mit Anti-Dsg3-IgG >600 [PIV] in Grafik B.

Der Vergleich der MSH-II-Score-Werte mit den Anti-Dsg3-Autoantikörpern zeigte diese Tendenz nicht; hier hatten die meisten Patienten bei hohen Anti-Dsg3-IgG-Werten keine subjektiven Beschwerden bei der Nahrungsaufnahme, nur einzelne Patienten zeigten eine positive Korrelation (s. Abb. 3.14.). Die Korrelationen der beiden MSH-Scores und jeweils den Dsg3-Autoantikörpern, sowie die Korrelationen der MSH-Scores untereinander wurden nur mit den Daten der Patienten berechnet, die eine mukosale Beteiligung aufwiesen.

A



B

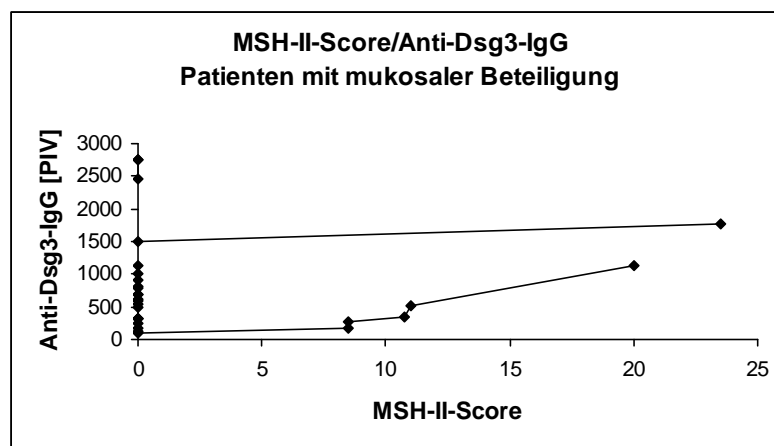


Abb. 3.14.: Korrelation ABSIS-MSH-II-Score/Anti-Dsg3-IgG. Zur besseren grafischen Darstellung wurden die Patienten mit mukosaler Beteiligung und einem Anti-Dsg3-IgG-Titer von <600 [PIV] in Grafik A dargestellt und die Patienten mit Anti-Dsg3-IgG >600 [PIV] in Grafik B.

Die Korrelation der beiden MSH-Score-Werte (s. Abb. 3.15.) zeigte einen positiven Zusammenhang, der allerdings etwas eingeschränkt wurde durch die Patienten, die trotz objektiv sichtbarer Läsionen der MSH keine subjektiven Beschwerden bei der Nahrungsaufnahme angaben, also einen positiven MSH-I-Score und einen MSH-II-Score von null hatten.

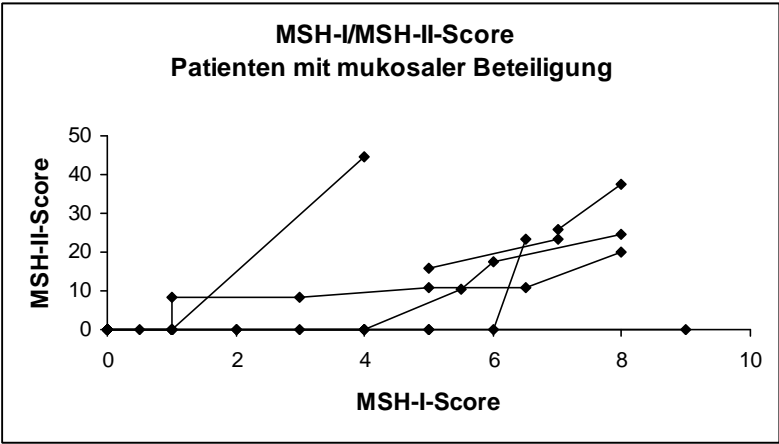


Abb. 3.15.: Korrelation der beiden ABSIS-MSH-Scores.

Bei der Untersuchung des Zusammenhangs der jeweiligen ABSIS-Werte mit dem Prednisolonäquivalent zeigten sich positive Korrelationen für den Haut- bzw. MSH-I-Score (s. Abb. 3.16. und 3.17.).

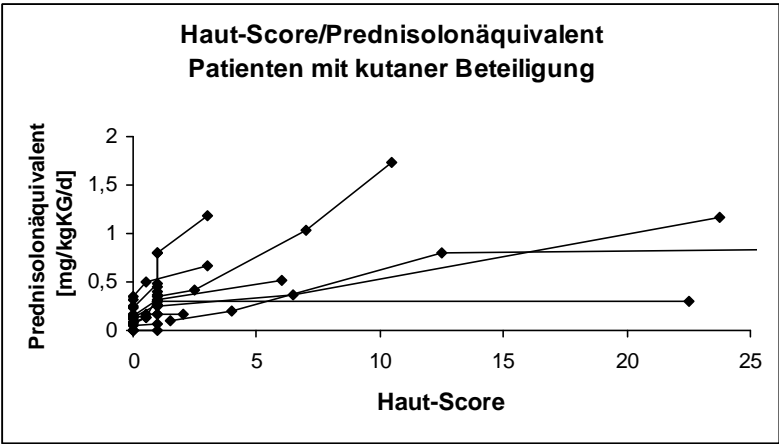


Abb. 3.16.: Korrelation ABSIS-Haut-Score/Prednisolonäquivalent. Hier ist zur übersichtlicheren Darstellung ein Haut-Score-Wert eines Patienten von 91,5 Punkten nicht mit abgebildet, erkennbar an der Linie ohne Abschlusspunkt.

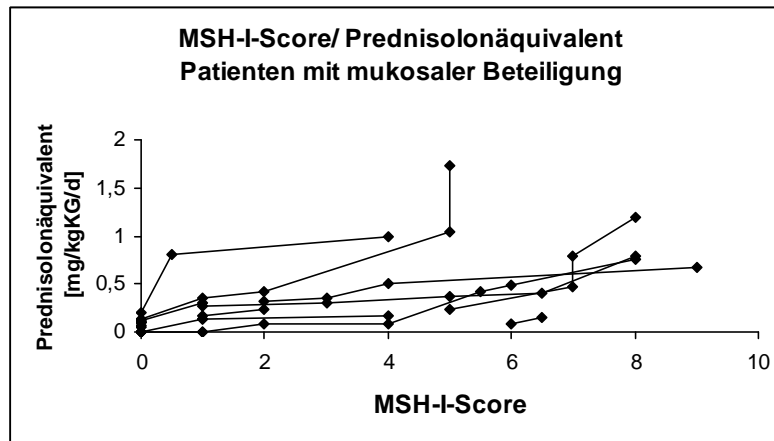


Abb. 3.17.: Korrelation ABSIS-MSH-I-Score/Prednisolonäquivalent.

Die Tendenz bei dem MSH-II-Score war, verglichen mit den anderen Scores, nicht so ausgeprägt (s. Abb. 3.18.): Es gab einige Patienten, die trotz eines Scorewertes von 0 relativ hohe Dosen Prednisolon erhielten. Diese Patienten erhielten aufgrund der objektiven MSH-Läsionen hohe Dosen Prednisolon, gaben aber keine subjektiven Beschwerden bei der Nahrungsaufnahme an. Dieses Phänomen lässt sich veranschaulichen, wenn man bei der Berechnung nur die Patienten mit einem positiven MSH-II-Score berücksichtigt (s. Abb. 3.19.). Im direkten Vergleich der beiden Abbildungen 3.18. und 3.19. fällt auf, dass unter Berücksichtigung der Patienten mit positivem MSH-II-Score der Zusammenhang zwischen dem MSH-II-Score und dem Prednisolonäquivalent deutlich positiver ausfiel.

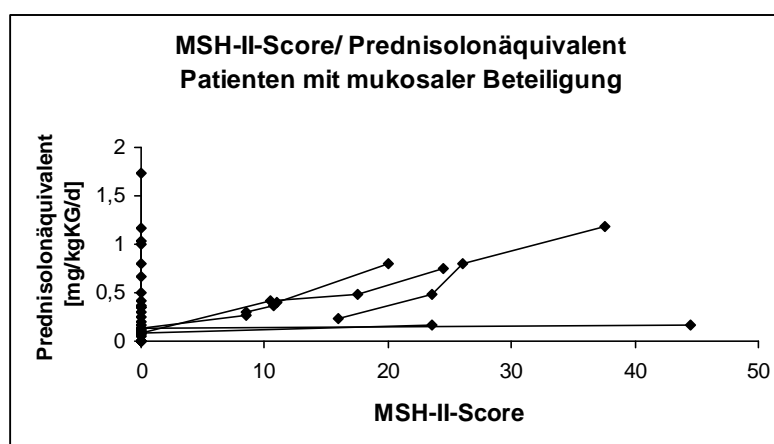


Abb. 3.18.: Korrelation ABSIS-MSH-II-Score/Prednisolonäquivalent.

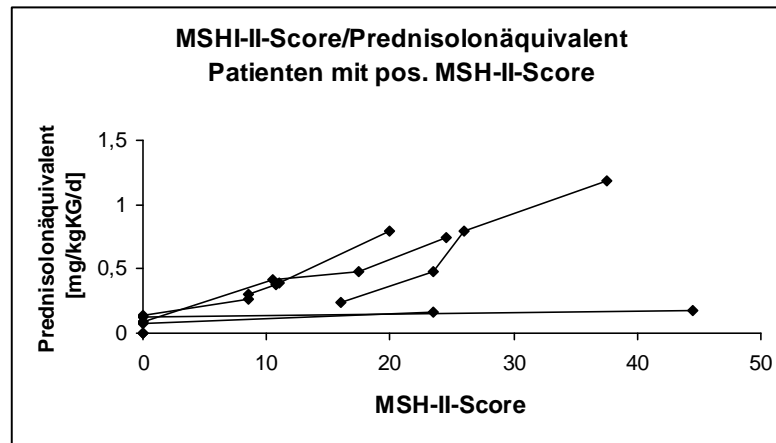


Abb. 3.19.: Korrelation ABSIS-MSH-II-Score/Prednisolonäquivalent für Patienten mit positivem MSH-II-Score.

Insgesamt muss berücksichtigt werden, dass die Daten der Patienten mit mukokutanem Pemphigus einmal in der Gruppe „mukosale Beteiligung“, aber auch in der Gruppe „kutane Beteiligung“ enthalten sind. Hier ist es also möglich, dass sich die Höhe der Prednisolondosis entweder nach dem Schweregrad der Hautläsionen bzw. der MSH-Läsionen oder beider Lokalisationen richtet. Die Abbildungen 3.20. bis 3.22. zeigen die Zusammenhänge der ABSIS-Parameter jeweils mit dem Prednisolonäquivalent nur für die Gruppe der Patienten mit mukokutanem Pemphigus, die einzelnen Patienten sind hierbei zum besseren Vergleich farblich markiert.

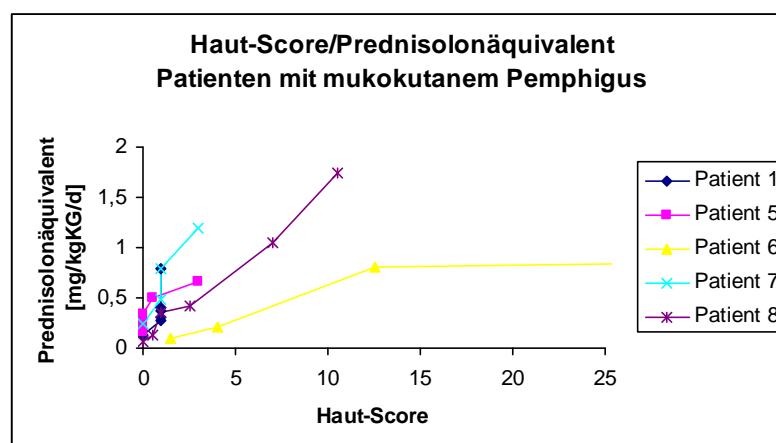


Abb. 3.20.: Korrelation ABSIS-Haut-Score/Prednisolonäquivalent für Patienten mit mukokutanem Pemphigus.

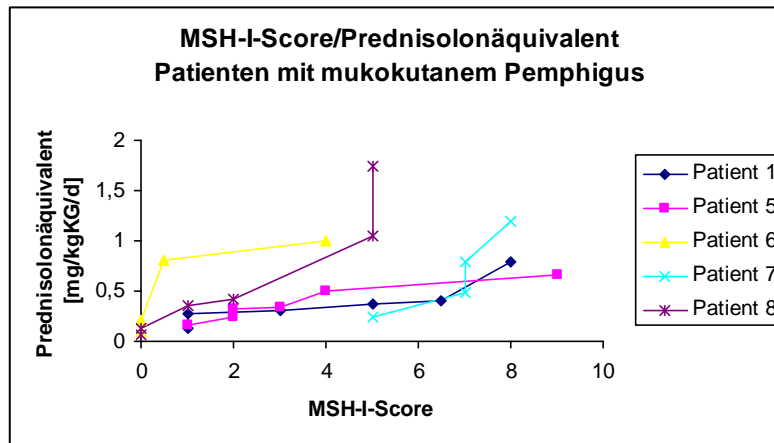


Abb. 3.21.: Korrelation ABSIS-MSH-I-Score/Prednisolonäquivalent für Patienten mit mukokutanem Pemphigus.

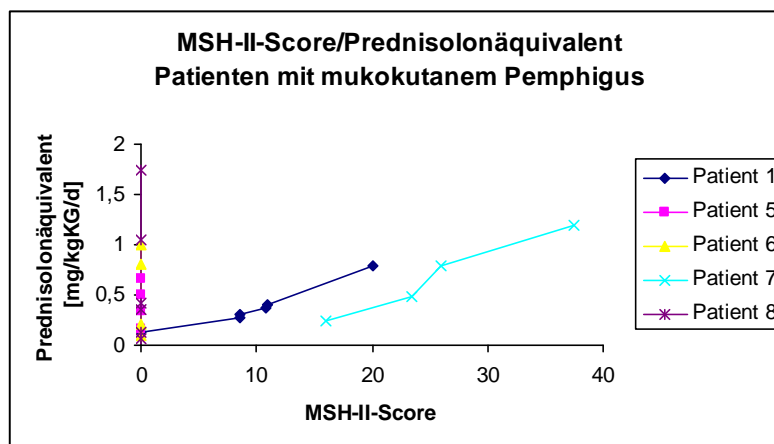


Abb. 3.22.: Korrelation ABSIS-MSH-II-Score/Prednisolonäquivalent für Patienten mit mukokutanem Pemphigus.

Die Patienten 1, 5 und 7 zeigten in der Abbildung 3.20. eher geringe Werte für den Haut-Score bei gleichzeitig relativ hohen Prednisolondosen. In Abbildung 3.21. zeigt sich, dass diese Patienten relativ hohe MSH-Score-Werte hatten, womit die hohen Prednisolondosen zu erklären sind. Die bereits erwähnte Beobachtung, dass viele Patienten zwar keine subjektiven Beschwerden bei der Nahrungsaufnahme hatten, aber aufgrund von vorhandenen MSH-Läsionen Prednisolon erhielten, was sich dann als fehlende Korrelation bei der Betrachtung des Zusammenhangs zwischen dem MSH-II-Score und dem Prednisolonäquivalent widerspiegelt, wird durch den Vergleich der Patienten 5, 6 und 8 in den Abbildungen 3.21. und 3.22. unterstützt. Diese Patienten hatten deutlich erhöhte MSH-Scores und relativ hohe Prednisolondosen, der MSH-II-Score war aber bei allen drei Patienten nicht erhöht.

Insgesamt zeigte sich ein positiver Zusammenhang zwischen dem ABSIS-Haut-Score und den Autoantikörpern gegen Dsg1. Dieser Trend zeigte sich in etwas abgeschwächter Form zwischen dem MSH-I-Score und den Anti-Dsg3-Autoantikörper. Ein positiver Zusammenhang zwischen dem MSH-II-Score und den Dsg3-spezifischen Autoantikörpern konnte nicht festgestellt werden.

Ähnlich ist es bei dem Zusammenhang der ABSIS-Parameter mit dem Prednisolonäquivalent, hier zeigten wieder die ABSIS-Haut-Score-Werte und MSH-I-Score-Werte positive Tendenzen, während dies bei dem MSH-II-Score nicht festzustellen war. Im Trendvergleich der beiden MSH-Scores zeichnete sich ein leicht positiver Trend ab (s. Abb. 3.15.).

4 Diskussion

Den Schweregrad einer Erkrankung objektiv quantifizieren zu können, ist Zielsetzung der klinischen Forschung in den verschiedensten Gebieten der Medizin. Eine objektive Einschätzung ermöglicht sowohl einen inter-individuellen Vergleich verschiedener Patienten als auch die intra-individuelle Vergleichbarkeit von Daten zu verschiedenen Zeitpunkten. Um diese Einschätzung möglichst untersucherunabhängig durchführen zu können, müssen Kriterien definiert werden, anhand derer verschiedene Schweregrade einer Erkrankung festgelegt sind. Häufig geschieht dies entweder durch Untersuchungsergebnisse, wie z.B. die Beurteilung der Beschaffenheit eines Organs im Ultraschall oder in anderen bildgebenden Verfahren oder die Höhe bestimmter Blutwerte, es werden aber auch die subjektiven Empfindungen und Beschwerden des Patienten berücksichtigt.

Die jeweiligen Kriterien müssen einheitlich sein, damit die Ergebnisse auch eine Vergleichbarkeit, z.B. im Rahmen multizentrischer Studien, ermöglichen. Die Einschätzung der Schwere einer Erkrankung ist z.B. für die Therapieentscheidung von großer Bedeutung. Ganz besonders wichtig sind klar definierte Einteilungen der klinischen Aktivität einer Erkrankung für die Durchführung von Therapiestudien, bei denen der Therapieerfolg anhand definierter Kriterien festgestellt wird.

Diese klaren und einheitlichen Kriterien zur Beurteilung der Krankheitsaktivität fehlen bisher für die bullösen Autoimmundermatosen. Viele Autoren definieren in ihren Studien immer wieder eigene Kriterien, die aber z. T. wesentliche Aspekte der Krankheiten nicht berücksichtigen. Häufig wird die Höhe der Autoantikörpertiter zur Beurteilung der Krankheitsaktivität herangezogen, da diese oft mit dem klinischen Bild korreliert (Cheng et al, 2002; Harman et al, 2001; Ishii et al, 1997; Kumar et al, 2006; Sams und Jordon, 1971). Einige Autoren weisen allerdings auf Ausnahmen hin, bei denen die Höhe der Autoantikörpertiter nicht mit der Krankheitsaktivität korreliert (Harman et al, 2001; Ishii et al, 1997, 2005; Kumar et al, 2006; Kwon et al, 2008). Diese Diskrepanz wurde auch in der vorliegenden Studie beobachtet. Die Höhe der Autoantikörpertiter als allgemeiner Parameter für die Krankheitsaktivität scheint also nicht generell anwendbar.

In der Entwicklung des ABSIS wurde versucht, die verschiedenen klinischen Phänotypen der bullösen Autoimmundermatosen, speziell des Pemphigus, zu berücksichtigen und möglichst auch feine klinische Veränderungen dokumentierbar zu machen. Hierzu wurde besonders die qualitative und quantitative Erfassung der Hautläsionen, sowie eine getrennte Aufnahme der MSH-Beteiligung unter Beachtung der subjektiven Beschwerden, berücksichtigt. Innerhalb dieser Studie wird der ABSIS prospektiv an einer Gruppe von Pemphigus-Patienten über einen Zeitraum von 12 Monaten untersucht.

4.1 Anforderungen an ein Score-System

Score-Systeme werden in den verschiedensten medizinischen Bereichen angewandt, um Aussagen über den Zustand oder über eine Zustandsveränderung eines Patienten treffen zu können (Brenck et al, 2008). Hieraus lassen sich dann therapeutische Vorgehensweisen und mögliche Aussagen über den Krankheitsverlauf ableiten. Damit ein Score-System dies leisten kann, muss es bestimmte Voraussetzungen erfüllen. Zum einen muss die Validität gegeben sein, d.h. der Score muss wiedergeben, was quantifiziert werden soll (Kreienbrock und Schach, 1997). Zum anderen müssen die Kriterien der Reliabilität erfüllt sein, d.h. die Ergebnisse wiederholter Messungen unter gleichen Bedingungen müssen identisch sein (Kreienbrock und Schach, 1997). Wichtige Messinstrumente hierfür sind die *inter-rater* und *intra-rater* Reliabilität (Berth-Jones et al, 2006), d.h. die Vergleichbarkeit der Messungen verschiedener Untersuchern bzw. wiederholter Messungen desselben Untersuchers. Ein ganz entscheidender Faktor bei einem Score-System sind die genauen Definitionen der verwendeten Parameter, unscharfe Definitionen sollten vermieden werden und der Freiraum für subjektive Einschätzungen sollte denkbar eng sein (Brenck et al, 2008). Ausnahmen stellen hier natürlich Befragungen zur Lebensqualität dar, diese sind von ihrer ursprünglichen Intention her subjektive Einschätzungen des Patienten. Ein Score-System sollte immer die Anforderungen haben, die jeweilige Erkrankung möglichst genau und in ihrer ganzen Komplexität wiederzugeben. Hier stoßen die theoretischen Anforderungen aber z. T. an ihre Grenzen, da ein Score-System einerseits zwar so genau wie möglich, andererseits aber noch praktikabel und auch im

klinischen Alltag einsetzbar sein sollte. In diesem Punkt müssen die verschiedenen Ansprüche gegeneinander abgewogen werden.

4.2 Bisher angewandte Scores beim Pemphigus

Ein allgemein akzeptiertes einheitliches System zur Einschätzung der klinischen Aktivität beim Pemphigus existiert bisher noch nicht. Die von den jeweiligen Autoren angewandten Verfahren sind sehr unterschiedlich in ihrer Gewichtung der verschiedenen Parameter und ihrer Komplexität.

Die meisten Autoren unterscheiden ein Scoresystem für die Haut- und eines für die MSH-Beteiligung. Die Einteilung der Haut erfolgt häufig entweder anhand der betroffenen Körperoberfläche oder anhand der Anzahl der vorhandenen Läsionen.

Agarwal et al verwenden z.B. eine Einteilung anhand der betroffenen Körperoberfläche in 15% bzw. 20%-Schritten mit insgesamt 6 Einteilungen (Agarwal et al, 1998). Sie verwenden ein relativ komplexes System, welches sie in Anlehnung an den PASI *Pemphigus Area and Severity Score* (PAAS) nennen. Hier geht neben der Fläche der betroffenen Hautareale noch die Anzahl der pro Tag neu aufgetretenen Blasen, sowie die periphere Extension bestehender Blasen und ein eventuell positives Nikolski-Phänomen in den Score ein.

Auch die Arbeitsgruppe von Mahajan et al nutzt den Anteil der betroffenen Körperoberfläche zur Einteilung des Haut-Scores, sie verwenden allerdings Prozenteinteilungen von 10% bis 25%, bei einer betroffenen Körperoberfläche von mehr als 50% wird die Höchstpunktzahl vergeben (Mahajan et al, 2005). Sie beziehen zusätzlich die Fähigkeiten zur Bewältigung des alltäglichen Alltags noch in den Score mit ein, allerdings ohne diese genauer zu definieren.

Ähnlich verfahren auch Ishii et al, die ebenfalls in 10-20%-Schritten einteilen, die höchstmögliche Punktzahl umfasst aber eine Beteiligung der Körperoberfläche ab 30% (Ishii et al, 1997). Auch sie beziehen die eventuell vorhandenen funktionellen Einschränkungen mit ein, ebenfalls allerdings ohne diese genau zu charakterisieren.

Diese Einteilungssysteme haben den Nachteil, dass sie die Intervalle der prozentual betroffenen Körperoberfläche sehr weit fassen, so dass kleine

Veränderungen nicht erfasst werden. Gerade in den niedrigen Prozentanteilen ist es entscheidend, ob nur 1% oder vielleicht 9% der Körperoberfläche beteiligt sind, diese Unterschiede fallen bei den genannten Systemen aber alle in den undifferenzierten kleinstmöglichen Scorebereich (0-10%).

Eine weitere Möglichkeit, die Hautbeteiligung beim Pemphigus zu quantifizieren, ist das Zählen der einzelnen Läsionen. So verfahren Harman et al und Shimanovich et al, allerdings mit dem Unterschied, dass Harman et al die vorhandenen Läsionen zählen, während für den Score von Shimanovich et al nur die neu aufgetretenen Läsionen entscheidend sind (Harman et al, 2001; Shimanovich et al, 2006).

Harman et al teilen den Haut-Score in eine geringe (unter 5 Läsionen), eine moderate (5-20 Läsionen) und eine starke Aktivität (über 20 Läsionen oder extensiv konfluierende Läsionen) ein (Harman et al, 2001).

Shimanovich et al definieren die Höchstpunktzahl ihres Scores von 4 Punkten als das Vorhandensein von mehr als 10 innerhalb der letzten Woche neu aufgetretenen Läsionen, 3 Punkte werden erreicht, wenn 1-10 neue Läsionen in der letzten Woche aufgetreten sind (Shimanovich et al, 2006). Die niedrigen Punktzahlen werden bei fehlender Neubildung von Blasen je nach verwendeter Therapie vergeben. Grundsätzlich besteht beim Zählen der einzelnen Läsionen das Problem, dass die Größe und Qualität der Läsionen unberücksichtigt bleibt. Insofern ist die prozentuale Beurteilung der betroffenen Körperoberfläche vorzuziehen. Bei der Einteilung von Shimanovich et al besteht zusätzlich das Problem, dass nur neu aufgetretene Läsionen berücksichtigt werden. Neben der Tatsache, dass dadurch bereits bestehende Läsionen nicht mit einbezogen werden, ist es nur schwer nachvollziehbar, welche Läsionen innerhalb von einer Woche neu hinzugekommen sind, zumal dies wöchentliche Untersuchungen voraussetzt, die ggf. ambulant schwer realisierbar sind.

Herbst und Bystryn verwenden ein etwas abgewandeltes System, sie zählen nicht die einzelnen Läsionen, sondern die Betroffenheit bestimmter, von ihnen definierter Körperbereiche, wie Kopfhaut, Gesicht/Nacken, oberer Torso, unterer Torso, Arme, Beine, MSH, Gesicht (Herbst und Bystryn, 2000). Dabei wird nicht zwischen einem Score für die Haut- bzw. für die MSH-Beteiligung differenziert. Hierbei besteht allerdings ebenfalls das Problem, dass unterschiedlich stark befallene Körperbereiche gleichwertig beurteilt werden

und somit das Ausmaß der Aktivität dadurch nicht richtig wiedergegeben wird. Zusätzlich ist die MSH-Beteiligung deutlich unterrepräsentiert, vor allem für Patienten, deren Haut nicht betroffen ist. Herbst und Bystryn legen neben der beschriebenen Einteilung starkes Gewicht auf die durchgeführte Therapie, die bis zu 6 der möglichen 10 Punkte des Scores ausmachen kann (Herbst und Bystryn, 2000).

Eine aktuell veröffentlichtes Scoresystem zur Erfassung der Krankheitsaktivität des Pemphigus, der *pemphigus disease area index* (PDAI), verbindet die Anzahl der Hautläsionen und deren Größe, indem insgesamt 6 Untergruppen mit Punkten von 0-3, 5 und 10 je nach Anzahl und Größe der Läsionen gebildet werden, die entsprechenden Punktzahlen werden dann jeweils für bestimmte anatomische Regionen vergeben, wie Ohren, Nase, restliches Gesicht, Nacken, Brust, Abdomen, Rücken/Gesäß, Arme, Hände, Beine, Füße und das Genital. Der Skalp wird getrennt je nach betroffenem Quadranten bewertet. Es werden zusätzlich Punkte für postinflammatorische Hyperpigmentierungen und bestehende Erytheme zur Beurteilung eines Hautschadens vergeben (Rosenbach et al, 2009).

Die Beteiligung der MSH-Manifestation wird bei fast allen Autoren anhand der Anzahl der vorhandenen Läsionen eingeteilt, z. T. werden noch zusätzliche Informationen mit aufgenommen, wie der Schweregrad der Läsionen (Agarwal et al, 1998) oder eventuell vorhandene Schwierigkeiten bei der Nahrungsaufnahme (Mahajan et al, 2005).

Harman et al teilen die MSH-Beteiligung, genau wie die Haut-Beteiligung, in ein Scoresystem mit Punkten von 0-3 ein: 1 Punkt bedeutet, dass weniger als 3 Erosionen der MSH vorhanden sind, 2 Punkte, dass 3-10 Erosionen vorhanden sind oder eine generalisierte Gingivitis vorliegt, 3 Punkte, dass über 10 Erosionen oder extensive konfluierende Erosionen vorhanden sind (Harman et al, 2001). Ähnlich verfahren Agarwal et al, die allerdings schon ab zwei betroffenen Stellen der MSH den Höchstwert von 3 Punkten vergeben, sie bewerten zusätzlich den Schweregrad, allerdings ohne genau zu beschreiben, wie sie die verschiedenen Schweregrade (mild, moderat und schwer) definiert haben (Agarwal et al, 1998).

Auch Mahajan et al teilen den MSH-Score nach Lokalisation der betroffenen Mukosa ein, wobei hier auch die eventuell vorhandenen Schwierigkeiten bei der

Nahrungsaufnahme in einer groben Einteilung erfasst werden (Mahajan et al, 2005).

Die Beurteilung der MSH innerhalb des PDAI beruht auf der Feststellung der Anzahl bzw. der Größe der Läsionen in bestimmten anatomischen Arealen, für die dann je nach Anzahl bestimmte Punktwerte vergeben werden. Die anatomischen Areale sind: Augen, Nase, bukkale Mukosa, harter und weicher Gaumen, obere und untere Gingiva, Zunge, Mundboden, Mukosa der Lippe, posteriorer Pharynx und die anogenitale Schleimhaut (Rosenbach et al, 2009).

Die Einteilung der MSH-Beteiligung beim Pemphigus von Saraswat und Kumar basiert zum einen auf der Betroffenheit bestimmter MSH-Areale und zum anderen auf der Beurteilung der Schwierigkeiten bei der Aufnahme bestimmter Nahrungsmittel, die der Patient selber bewertet (Saraswat und Kumar, 2003). Auch hier wird, ähnlich wie beim Haut-Score von Herbst und Bystry, die Größe und Qualität der einzelnen Läsionen nicht berücksichtigt. Bei der Beurteilung der MSH-Beteiligung erscheint dieses Vorgehen sinnvoll, da hier die Größe und Beschaffenheit lokalisationsbedingt schwer abzuschätzen ist. Die anatomischen Bereiche sind so gewählt, dass deutliche Größendifferenzen kaum auftreten können, anders als z.B. bei den Arealen der Körperoberfläche. Die Einteilung von Saraswat und Kumar scheint gut geeignet zu sein, die MSH-Beteiligung beim Pemphigus darzustellen. Aus diesem Grund wurde diese Einteilung auch in den ABSIS integriert. Als alleiniges Scoresystem reicht es nicht aus, weil die Hautbeteiligung nicht berücksichtigt wird.

Die bisher veröffentlichten Beurteilungen der klinischen Aktivität des Pemphigus geben die Komplexität der Erkrankung nicht ausreichend exakt bzw. nur bestimmte Manifestationen wider, so dass sich die Notwendigkeit zur Etablierung eines umfassenden Scores ergibt. Der ABSIS-Score berücksichtigt neben quantitativen auch qualitative Aspekte der Haut und Schleimhautläsionen (Pfütze et al, 2007).

4.3 Praktikabilität des ABSIS

Die Durchführung des ABSIS ist leicht verständlich und erfordert für Dermatologen nur eine kurze Einführung. Die genaue Begutachtung der betroffenen Haut- und Schleimhautareale, sowie die Erfragung des MSH-II-Scores erscheinen allerdings abhängig vom Schweregrad zeitintensiv, wodurch

aber auch gewährleistet wird, dass die Komplexität der Erkrankung möglichst gut abgebildet wird. In einer kürzlich publizierten Untersuchung der Reliabilität und Validität des ABSIS und des PDAI wird die erforderliche Zeit zur Aufnahme der ABSIS-Parameter eines Patienten mit einem Mittelwert von 3,9 Minuten und einer Standardabweichung von 0,18 Minuten angegeben, die erforderliche Zeit für den PDAI ist mit 4,7 Minuten \pm 0,18 Minuten etwas länger (Rosenbach et al, 2009). Eine Rückmeldung der an dieser Studie teilnehmenden Ärzte ergab, dass sie beide untersuchten Score-Systems aufgrund der erforderlichen Zeit und der Komplexität als nicht in die tägliche Routine einführbar hielten (Rosenbach et al, 2009). Für den Einsatz in klinischen Studien erscheint der ABSIS aber geeignet, da eine durchschnittlich benötigte Zeit von etwa vier Minuten in diesem Rahmen durchaus angemessen und durchführbar ist.

Der Haut-Score des ABSIS basiert auf der Einschätzung der prozentual betroffenen Körperoberfläche anhand der sogenannten „9er-Regel“. Aufgrund anderer Studien, u.a. zur Beurteilung des atopischen Ekzems, ist bekannt, dass dies die Gefahr hoher Variation innerhalb verschiedener Untersuchern birgt (Charman et al, 1999; Tiling-Grosse und Rees, 1993). Diese Gefahr ist besonders hoch, wenn nicht-ausgebildete Personen die Körperoberfläche einschätzen bzw. wenn viele verschiedene Untersucher beteiligt sind. Charman et al halten es deswegen für sinnvoll, dass möglichst Dermatologen die Messung der Körperoberfläche durchführen sollten und innerhalb einer Studie möglichst auch nur 1 bis 2 Untersucher involviert sein sollten (Charman et al, 1999).

In der vorliegenden Studie haben insgesamt drei Dermatologen die Scores erfasst, allerdings wurden die einzelnen Ergebnisse nicht Untersucher-getrennt voneinander aufgenommen. Für weitere Studien wäre es sicher interessant, Untersucher-getrennte Beurteilungen zu machen, um so die *inter-rater*-Variabilität untersuchen zu können.

Die Erfassung des MSH-I-Scores ist aufgrund der genauen anatomischen Eingrenzung der Areale einfach durchführbar. Das Abfragen der Speisen für den MSH-II-Score ist ebenfalls einfach durchführbar, es kann sich aber die Schwierigkeit ergeben, dass die Patienten eine zu erfragende Speise grundsätzlich nicht essen bzw. ethnische Unterschiede bestehen, hier sollte man dann auf eine andere Speise ähnlicher Konsistenz ausweichen.

4.4 Problem des fehlenden Standards

Zur Beurteilung der Validität des ABSIS ist es erforderlich, Vergleichswerte für die Überprüfung der ABSIS-Parameter heranzuziehen. In zahlreichen Studien werden die Titer der Autoantikörper gegen Dsg1 und Dsg3 als Parameter zur Beurteilung der Aktivität des Pemphigus eingesetzt. Allerdings gibt es hier durchaus Berichte in der Literatur, dass diese Annahme nicht immer zutreffend ist (Harman et al, 2001; Ishii et al, 1997, 2005; Kumar et al, 2006; Kwon et al, 2008). Des Weiteren wird das Prednisolonäquivalent zur Darstellung der Krankheitsaktivität herangezogen (Cheng et al, 2002; Herbst und Bystryn, 2000; Joly et al, 2007). Hier ist es häufig so, dass die Steroiddosis dann reduziert wird, wenn der Patient ein klinisches Ansprechen zeigt. Das Problem besteht hier darin, dass es kein standardisiertes Vorgehen bezüglich der Steroiddosis bzw. der Dosisreduktion gibt und das therapeutische Vorgehen weitgehend auf Erfahrungswerten beruht (Harman et al, 2003).

Ein allgemein akzeptierter Standard zur Beurteilung der Krankheitsaktivität ist also nicht vorhanden (Rosenbach et al, 2009). Rosenbach et al nutzen deswegen als Vergleichsparameter des ABSIS und des PDAls ein Messinstrument, das für inflammatorische Hauterkrankungen genutzt wird, für den Pemphigus aber nicht validiert ist, den *Physician's Global Assessment* (PGA) (Rosenbach et al, 2009).

Das Fehlen eines allgemein akzeptierten Standards erschwert die Beurteilung und die Validierung des neu eingeführten ABSIS, da ein direkter Vergleichsparameter fehlt.

Im Rahmen dieser Studie wurden die beiden erwähnten Messinstrumente (Autoantikörper und Prednisolonäquivalent) als Vergleich zum ABSIS verwendet, da diese bisher allgemein verwendete Parameter sind.

4.5 Vergleich der ABSIS-Parameter mit den Autoantikörpern und dem Prednisolonäquivalent

Der Zusammenhang zwischen dem Haut-Score und Anti-Dsg1-Autoantikörpern ist positiv, hohe Haut-Score-Werte gehen meist auch mit hohen Anti-Dsg1-IgG-Titern einher (s. Abb. 3.13.). Dies ist ebenso der Fall bei dem Zusammenhang von Haut-Score und Prednisolonäquivalent (s. Abb. 3.17). Weniger positiv stellt

sich dagegen der Zusammenhang zwischen den MSH-Scores und den Dsg3-spezifischen Autoantikörpern bzw. dem Prednisolonäquivalent dar (s. Abb. 3.14., 3.15., 3.18., 3.19.), wobei hier noch ein etwas besserer Zusammenhang für den MSH-I-Score besteht. Es gibt einzelne Patienten, die trotz ausgeheilter MSH-Läsionen hohe Anti-Dsg3-IgG-Titer haben.

Im Hinblick auf die Höhe der Autoantikörpertiter zeigt die vorliegende Studie zwei Phänomene: Zum einen ist die absolute Höhe der Autoantikörpertiter individuell sehr unterschiedlich, es gibt Patienten, die trotz ausgeprägter Läsionen im Verhältnis zu anderen Patienten relativ niedrige Autoantikörpertiter haben und umgekehrt (s. Tab. 4.1. und 4.2.) Dies ist besonders bei den Autoantikörpern gegen Dsg3 der Fall, wodurch der schlechtere Zusammenhang der Parameter ABSIS-MSH-Scores und Dsg3-reaktive Autoantikörper zu erklären ist. Die Anti-Dsg1-Autoantikörper variieren in ihrer individuellen Höhe im Verhältnis zum Score nicht so stark.

Die Tabelle 4.1. zeigt anhand einzelner Beispiele, die individuell unterschiedliche Höhe der Autoantikörpertiter. Patient 1 und 2 haben etwa gleich hohe ABSIS-MSH-Werte, die Dsg3-spezifischen Autoantikörper sind bei Patient 1 aber 10 mal so hoch. Patient 10 hat bei einem niedrigeren MSH-I-Score einen höheren MSH-II-Score, seine Autoantikörper gegen Dsg3 sind aber vergleichbar mit denen von Patient 2. Genau das entgegengesetzte Phänomen zeigen die Beispiele von Patient 17, 18 und 21, die alle bei fehlenden MSH-Läsionen relativ hohe, bzw. Patient 18 sogar sehr hohe, Anti-Dsg3-IgG-Titer zeigen.

Zeitpunkt 0	MSH-I-Score	MSH-II-Score	Anti-Dsg3-IgG [PIV]
Patient 1	8	20	1138
Patient 2	8	24,5	103
Patient 10	4	44,5	94
Patient 17	1	0	538
Patient 18	0	0	2958
Patient 21	0	0	330

Tab. 4.1.: Beispiel für die individuell unterschiedliche Höhe der Anti-Dsg3-IgG.

Tabelle 4.2. zeigt auf der einen Seite, dass die höchsten ABSIS-Werte des Haut-Scores bei Patient 6 und Patient 12 auch mit den höchsten Werten der Dsg1-spezifischen Autoantikörper einhergeht, auf der anderen Seite hat Patient

18 bei annähernd gleichem ABSIS-Haut-Score wie Patient 12 einen um 751 [PIV] niedrigeren Autoantikörperwert. Patient 5 hat bei gleichem ABSIS-Score einen deutlich niedrigeren Autoantikörpertiter als Patient 7.

Zeitpunkt 0	Haut-Score	Anti-Dsg1-IgG [PIV]
Patient 5	3	69
Patient 7	3	150
Patient 6	91,5	819
Patient 12	23,75	849
Patient 18	22,5	98

Tab. 4.2.: Beispiel für die individuell unterschiedliche Höhe der Anti-Dsg1-IgG.

Zum anderen persistieren häufig die Autoantikörper, obschon die Patienten in klinischer Remission bzw. Abheilung sind (s. Tab. 4.3.). Auch dieses Phänomen ist besonders bei den Autoantikörpern gegen Dsg3 ausgeprägt, nur bei einer Patientin mit PF persistieren die Anti-Dsg1-Autoantikörper, wenn auch auf deutlich niedrigerem Niveau als die Anti-Dsg3-Autoantikörper.

Patient 17					
Zeitpunkt	Haut-Score	MSH-I-Score	MSH-II-Score	Anti-Dsg1-IgG [PIV]	Anti-Dsg3-IgG [PIV]
0	0	1	0	6	538
1	0	0	0	5	246
2	0	0	0	6	319
3	0	0	0	4	482
4	0	0	0	4	790
5	0	0	0	3	800

Tab. 4.3.: Verlauf der Werte von Patient 17 als repräsentatives Beispiel für persistierende Anti-Dsg3-IgG.

Das Phänomen persistierender Autoantikörper bei klinischer Remission oder Abheilung wird in der Literatur beschrieben (Harman et al, 2001; Ishii et al, 1997, 2005; Kumar et al, 2006; Kwon et al, 2008), die Ursache hierfür ist aber noch nicht geklärt. Ishii et al vermuten, dass die persistierenden Autoantikörper nicht pathogen sind und andere Dsg-Epitope erkennen (Ishii et al, 1997, 2005). Denkbar wäre auch, dass infolge der stattgefundenen Therapie die Pathogenität der Autoantikörper und damit auch die klinischen Symptome abgenommen haben, die Autoantikörper aber weiterhin nachweisbar sind (Harman et al, 2001). Kumar et al sehen die polyklonale Natur der Anti-Dsg-Autoantikörper als möglicherweise ursächlich an, da die Subklassen der Anti-

Dsg-IgG eine unterschiedliche Pathogenität aufweisen, diese aber im ELISA nicht berücksichtigt werden (Kumar et al, 2006). Hiermit konform gehen die Beobachtungen von Eming et al, die im Rahmen einer Studie zur Untersuchung der Auswirkungen von Rituximab bei Patienten mit Pemphigus ein frühes statistisch signifikantes Abfallen der Anti-Dsg3-IgG₄-Titer feststellen, begleitet von einer klinischen Verbesserung, wohingegen die gesamten Anti-Dsg3-IgG-Titer zu diesem Zeitpunkt nicht statistisch signifikant gesunken sind (Eming et al, 2008). In dieser Studie wird ebenfalls gezeigt, dass bei dem Vergleich der Autoantikörperisotypen die Anti-Dsg3-IgG₄-Titer deutlich stärker abfallen als die Anti-Dsg3-IgG₁-Titer (Eming et al, 2008). In früheren Studien wurde bereits gezeigt, dass die IgG₄-Subklasse der Autoantikörper gegen Dsg3 in der aktiven Phase überwiegen, während die Anti-Dsg3-IgG₁ in klinischer Remission die vorherrschende Subklasse sind (Bhol et al, 1995; Hertl und Veldman, 2001; Spaeth et al, 2001). Das kommerziell erhältliche ELISA-System misst aber nur die Titer des gesamten Anti-Dsg3-IgG, so dass hier bei Patienten in Remission zwar eventuell hohe Titer gemessen werden, diese sich aber möglicherweise durch das Vorhandensein der weniger pathogenen IgG₁-Subklasse erklären, während die Titer der pathogenen IgG₄-Subklasse bereits deutlich abgesunken sind. Die differenzierte Untersuchung der Anti-Dsg3-IgG-Isotypen ist ein sinnvoller Marker zur Bestimmung der Krankheitsaktivität (Spaeth et al, 2001). Bisher ist hierfür aber noch kein kommerziell erhältlicher ELISA vorhanden.

Li et al haben beim endemischen PF pathogene Autoantikörper, die gegen Epitope der EC1- und EC2-Domäne von Dsg1 gerichtet sind und in der klinisch aktiven Phase vorhanden sind, sowie nicht pathogene Autoantikörper gegen Epitope der EC5-Domäne, die während Remission und präklinisch vorherrschen, identifiziert (Li et al, 2003). Kommerziell erhältliche ELISA können aber nicht zwischen den EC-Domänen differenzieren, so dass sie auch dann erhöhte Autoantikörpertiter anzeigen, wenn die nicht pathogenen Autoantikörper gegen die EC5-Domäne vorhanden sind. Auch hier wäre eine differenziertere ELISA-Technik sinnvoll. Ähnliche Beobachtungen konnten Joly et al in einer Studie zur Wirksamkeit von Rituximab machen, hier wurden bei einigen Patienten persistierende Autoantikörper trotz klinischer Remission festgestellt, die differenzierte Serumtestung zeigte einen deutlichen Abfall der

pathogenetisch relevanten Autoantikörper gegen Epitope der EC1- und EC2-Domäne von Dsg3 (Joly et al, 2007).

Zurzeit lässt also die alleinige Quantifizierung der Autoantikörpertiter nicht unbedingt einen Rückschluss auf die klinische Aktivität zu, so dass hier die zusätzliche Information des ABSIS nützlich ist, um die Krankheitsaktivität bei Pemphigus-Patienten genauer festzustellen.

4.6 Beurteilung des ABSIS

ABSIG berücksichtigt die verschiedenen Qualitäten der Pemphigus-Erkrankung, indem z.B. beim Haut-Score nicht nur die Extension der Erosionen berücksichtigt wird, sondern auch deren Beschaffenheit bzw. Aktivität, indem anhand eines Wichtungsfaktors die Qualität der Erosionen berücksichtigt wird. Die Beurteilung der MSH richtet sich nicht nur nach den sichtbaren Läsionen, sondern auch danach, wie stark sich die Patienten subjektiv bei der Nahrungsaufnahme beeinträchtigt fühlen.

Im ABSIS wird auf unscharfe Bezeichnungen, wie z.B. „mild“, „mäßig“ etc., verzichtet, so dass alle zu bewertenden Parameter möglichst genau definiert sind. Außerdem wird bewusst auf das Einbeziehen von in einem bestimmten Zeitraum neu gebildeten Blasen verzichtet, weil diese Beurteilung im klinischen Alltag nicht praktikabel erscheint.

Ein annähernd vergleichbares anderes Scoresystem, das diesen Ansprüchen - Verständlichkeit, einfache Durchführung, genaue Definitionen, gleichwertige Gewichtung von Haut- und MSH-Beteiligung- genügt, besteht derzeit nur in dem neu aufgestellten Scoresystem PDAI, das aber bisher noch nicht an longitudinalen Patientendaten untersucht wurde. Hier wäre es interessant, dieses im Vergleich zum ABSIS zu untersuchen.

Rosenbach et al kritisieren den ABSIS dahingehend, dass eine betroffene Körperoberfläche von <1% im Haut-Score nicht weiter differenziert bewertet werden kann, sondern im Prinzip als 1% bewertet wird (Rosenbach et al, 2009). Obwohl ein berechtigter Kritikpunkt, ist der Schweregrad des Pemphigus bei einer Hautbeteiligung von weniger als einem Prozent der Körperoberfläche so niedrig, dass eine noch genauere Einteilung nicht unbedingt nötig erscheint. Ausnahme ist eventuell die Beteiligung der Haut im Gesicht, da hier auch sehr kleine Läsionen störend und stigmatisierend sein können.

Der MSH-II-Score des ABSIS ist ein subjektiver Parameter, die Empfindungen der Patienten können hier wie bei allen subjektiven Einschätzungen sehr stark variieren, vor allem wenn Schmerzintensitäten beurteilt werden. Dies führt zu einer eingeschränkten Nutzung des MSH-II-Scores, im Prinzip ist hier kaum ein inter-individueller Vergleich möglich. Der intra-individuelle Vergleich verschiedener Zeitpunkte eines Patienten ist aber durchaus sinnvoll.

Um die Aussagekraft des ABSIS noch genauer zu untersuchen, ist eine prospektive Untersuchung mit einer größeren Patientenzahl erforderlich, damit z.B. die individuell unterschiedliche Höhe der Autoantikörper nicht so stark ins Gewicht fällt. Aufgrund der niedrigen Inzidenz des Pemphigus ist dies aber nur in Multicenter-Studien zu erreichen.

5 Zusammenfassung

Pemphigus ist eine seltene Autoimmunerkrankung, bei der sich Autoantikörper gegen desmosomale Adhäsionsmoleküle hauptsächlich gegen Desmoglein (Dsg)1 und Dsg3 bilden, die zu einem Zelladhäsionsverlust epidermaler Keratinozyten und damit zur Akantholyse in der Haut bzw. in der Schleimhaut führen, was sich klinisch in einer Blasenbildung bzw. in Erosionen äußert.

Der Pemphigus ist eine potentiell lebensbedrohliche Erkrankung. Grundpfeiler der Therapie bilden systemische Kortikosteroide, adjuvant werden verschiedene Immunsuppressiva und in therapierefraktären Fällen weitere Therapieformen, wie z.B. die Immunadsorption (IA) oder Rituximab, eingesetzt. Weitere therapeutische Möglichkeiten sind Bestandteil aktueller Forschungen.

Zur Beurteilung verschiedener Therapieformen ist es erforderlich, den Schweregrad der Erkrankung quantitativ erfassen zu können. Ein derartiges allgemein anerkanntes System für bullöse Autoimmundermatosen besteht zurzeit noch nicht. Deshalb wurde ein neues Score-System entwickelt, der *Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score* (ABSIS), der in der vorliegenden Studie prospektiv an 17 Pemphigus-Patienten über 12 Monate untersucht wurde.

Der ABSIS teilt die klinischen Ausprägungen der Betroffenheit von Haut und Schleimhäute in einem speziellen Score-System ein, zusätzlich werden die Dsg-reaktiven Autoantikörpertiter und die systemische Kortikosteroiddosis, umgerechnet in die entsprechende Dosis Prednisolon (Prednisolonäquivalent), aufgenommen. Diese Parameter wurden zu verschiedenen Zeitpunkten während 12 Monaten von den Patienten erhoben. Um die Aussagekraft der ABSIS-Parameter zu beurteilen, wurden ihre Korrelationen mit den Anti-Dsg-Autoantikörpern und dem Prednisolonäquivalent untersucht, da dies bisher angewandte Maßstäbe für die Krankheitsaktivität sind. Insgesamt zeigte sich ein positiver Zusammenhang zwischen dem ABSIS-Haut-Score und in etwas abgeschwächter Form auch zwischen dem objektiven Score für die Mundschleimhaut (MSH), dem MSH-I-Score, und den jeweils korrespondierenden Dsg-reaktiven Autoantikörpern sowie dem Prednisolonäquivalent. Ein positiver Zusammenhang zwischen dem MSH-II-Score und den Anti-Dsg3-Autoantikörpern, sowie dem Prednisolonäquivalent konnte nicht festgestellt werden, möglicherweise aufgrund von persistierenden Autoantikörper-

titern trotz Remission bei einigen Patienten, eine weitere Ursache könnte auch die schlechtere Vergleichbarkeit des subjektiven MSH-II-Scores sein. Die Höhe der Dsg-reaktiven Autoantikörper wird als Maßstab zur Beurteilung der klinischen Aktivität herangezogen, da eine positive Korrelation zwischen der Höhe der Titer und der Krankheitsaktivität festgestellt wurde. Inzwischen ist aber bekannt, dass dies durchaus nicht immer zutrifft. Dies erschwert auf der einen Seite die Beurteilung des neu eingeführten ABSIS, auf der anderen Seite wird aber ersichtlich, dass die Einführung eines allgemein anerkannten Score-Systems wie ABSIS notwendig ist.

AB SIS ist ein für den wissenschaftlichen Einsatz in klinisch prospektiven Studien, insbesondere in Therapiestudien, viel versprechendes Scoresystem, das die verschiedenen Qualitäten des Pemphigus in ihrer Komplexität berücksichtigt und dabei einfach anwendbar ist. Um die Aussagekraft des ABSIS noch exakter zu untersuchen, ist eine größere Patientenzahl erforderlich, die aufgrund der niedrigen Inzidenz des Pemphigus nur in Multicenter-Studien zu erreichen ist.

Literaturverzeichnis

Agarwal, M., Walia, R., Kochhar, A.M., Chander, R. (1998). Pemphigus Area and Activity Score (PAAS)--a novel clinical scoring method for monitoring of pemphigus vulgaris patients. *Int J Dermatol* 37: 158-60.

Ahmed, A.R., Yunis, E.J., Khatri, K., Wagner, R., Notani, G., Awdeh, Z., Alper, C.A. (1990). Major histocompatibility complex haplotype studies in Ashkenazi Jewish patients with pemphigus vulgaris. *Proc Natl Acad Sci USA* 87, 7658-7662.

Ahmed, A.R., Wagner, R., Khatri, K., Notani, G., Awdeh, Z., Alper, C.A., Yunis, E.J. (1991). Major histocompatibility complex haplotypes and class II genes in non-Jewish patients with pemphigus vulgaris. *Proc Natl Acad Sci USA* 88, 5056-5060.

Amagai, M., Klaus-Kovtun, V., Stanley, J.R. (1991). Autoantibodies against a Novel Epithelial Cadherin in Pemphigus Vulgaris, a Disease of Cell Adhesion. *Cell* 67, 869-877.

Amagai, M., Karpati, S., Prussick, R., Klaus-Kovtun, V., Stanley, J.R. (1992). Autoantibodies against the Amino-terminal Cadherin-like Binding Domain of Pemphigus Vulgaris Antigen Are Pathogenic. *The Journal of Clinical Investigation* 90: 919-926.

Amagai, M., Hashimoto, T., Shimizu, N., Nishikawa, N. (1994). Absorption of Pathogenic Autoantibodies by the Extracellular Domain of Pemphigus Vulgaris Antigen (Dsg3) Produced by Baculovirus. *J Clin Invest.* 94:59-67.

Amagai, M. (1995). Adhesion Molecules. I: Keratinocyte-Keratinocyte Interactions; Cadherins and Pemphigus. *J Invest Dermatol* 104: 146-152.

Amagai, M., Hashimoto, T., Green, K.J., Shimizu, N., Nishikawa, T. (1995). Antigen-Specific Immunoabsorption of Pathogenic Autoantibodies in Pemphigus Foliaceus. *J Invest Dermatol* 104: 895-901.

Amagai, M., Koch, P.J., Nishikawa, T., und Stanley, J.R. (1996). Pemphigus vulgaris antigen (desmoglein 3) is localized in the lower epidermis, the site of blister formation in patients. *J Invest Dermatol* 106, 351-355.

Amagai, M., Komai, A., Hashimoto, T., Shirakata, Y., Hashimoto, K., Amada, T., Kitajima, Y., Ohya, K., Iwanami, H., Nishikawa, T. (1999a). Usefulness of enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant desmogleins 1 and 3 for serodiagnosis of pemphigus. *Br J of Dermatology* 140:351-357.

Amagai, M., Tsunoda, K., Zillikens, D., Nagai, T., Nishikawa, T. (1999b). The clinical phenotype of pemphigus is defined by the anti-desmoglein autoantibody profile. *J Am Acad Dermatol* 40:167-70.

Anhalt, G.J., Labib, R.S., Voorhees, J.J., Beals, T.F., Diaz, L.A. (1982). Induction of pemphigus in neonatal mice by passive transfer of IgG from patients with the disease. *N Engl J Med* 306, 1189-1196.

Aoyama, Y., Owada, M.K., Kitajima, Y. (1999). A pathogenic autoantibody, pemphigus vulgaris- IgG, induces phosphorylation of desmoglein 3, and its dissociation from plakoglobin in cultured keratinocytes. *Eur J Immunol* 29: 2233–2240.

Arin, M.J., Engert, A., Krieg, T., Hunzelmann, N. (2005). Anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) in the treatment of pemphigus. *British Journal of Dermatology* 153, 620–625.

Bastuji-Garin, S., Soussi, R., Blum, L., Turki, H., Noura, R., Jomaa, B., Zahaf, A., Ben Osman, A., Mokhtar, I., Fazaa, B., Revuz, J., Roujeau, J.-C., Kamoun, M.R. (1995). Comparative Epidemiology of Pemphigus in Tunisia and France: Unusual Incidence of Pemphigus Foliaceus in Young Tunisian Women. *J Invest Dermatol* 104:302-305.

Berth-Jones, J., Grotzinger, K., Rainville, C., Pham, B., Huang, J., Daly, S., Herdman, M., Firth, P., Hotchkiss, K. (2006). A study examining inter- and intrarater reliability of three scales for measuring severity of psoriasis: Psoriasis Area and Severity Index, Physician's Global Assessment and Lattice System Physician's Global Assessment. *British Journal of Dermatology*. 155, 707–713.

Bickle, K.M., Roark, T.R., Hsu, S. (2002). Autoimmune Bullous Dermatoses: A Review. *Am Fam Physician* 65:1861-70.

Bhol, K., Natarajan, K., Nagarwalla, N., Mohimen, A., Aoki, V., und Ahmed, A. R. (1995). Correlation of peptide specificity and IgG subclass with pathogenic and nonpathogenic autoantibodies in pemphigus vulgaris: A model for autoimmunity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 5239-5243.

Braun-Falco, O., Plewig, G., Wolf, H.H., Burgdorf, W.H.C., Landthaler, M. (2005). *Dermatologie und Venerologie*. 5. Auflage. Springer, Heidelberg.

Bystryn, J.C., Rudolph, J.L. (2005a). Pemphigus. *Lancet* 366: 61–73.

Bystryn, J.C., Rudolph, J.L. (2005b). IVIg TREATMENT OF PEMPHIGUS: How it Works & How to Use it. *J Invest Dermatol* 125:1093–1098.

Caldelari, R., de Bruin, A., Baumann, D., Suter, M.M., Bierkamp, C., Balmer, V., Müller, E. (2001). A central role for the armadillo protein plakoglobin in the autoimmune disease pemphigus vulgaris. *J Cell Biol* 153, 823-834.

Calvanico, N.J., Martins, C.R., Diaz, L.A. (1991). Characterization of Pemphigus Foliaceus Antigen from Human Epidermis. *J Invest Dermatol* 96:815–821.

Campo-Voegeli, A., Muñiz, Mascaró, J.M., Casals, M., García, F., Arimany, J.L., Amagai, M., Camps, A. (2002). Neonatal pemphigus vulgaris with extensive mucocutaneous lesions from a mother with oral pemphigus vulgaris. *British Journal of Dermatology* 147: 801–805.

Chan, L. S., Vanderlugt, C.J., Hashimoto, T., Nishikawa, T., Zone, J.J., Black, M.M., Wojnarowska, F., Stevens, S.R., Chen, M., Fairley, J.A., et al. (1998). Epitope spreading: lessons from autoimmune skin diseases. *J Invest Dermatol* 110, 103-109.

Charman, C.R., Venn, A.J., Williams, H.C. (1999). Measurement of body surface area involvement in atopic eczema: an impossible task? *Br J Dermatol* 140: 109-11.

Charman, C., Williams, H. (2000). Outcome Measures of Disease Severity in Atopic Eczema. *Arch Dermatol*. 136:763-769.

Cheng, S.W., Kobayashi, M., Kinoshita-Kuroda, K., Tanikawa, A., Amagai, M., Nishikawa, T. (2002). Monitoring disease activity in pemphigus with enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant desmogleins 1 and 3. *Br J Dermatol* 147: 261-5.

Dakkak, M., Bennett, J.R. (1992). A new dysphagia score with objective validation. *J Clin Gastroenterol* 14(2): 99-100.

Delgado, J.C., Hameed, A., Yunis, J.J., Bhol, K., Rojas, A.I., Rehman, S.B., Khan, A.A., Ahmad, M., Alper, C.A., Ahmed, A.R., Yunis, E.J. (1997). Pemphigus Vulgaris Autoantibody Response is Linked to HLA-DQB1*0503 in Pakistani Patients. *Human Immunology* 57, 110–119.

Diaz, L.A., Sampaio, S.A., Rivitti, E.A., Martins, C.R., Cunha, P.R., Lombardi, C., Almeida, F.A., Martins Castro, R., Macca, M.L., Lavrado, C., Filho, G.H., Borges, P., Minelli, L., Empinotti, J.C., Friedman, H., Campbell, J.I., Labib, R.S., Anhalt, G.J. (1989). Endemic pemphigus foliaceus (fogo selvagem). I. Clinical features and immunopathology. *J Am Acad Dermatol* 20:657-69.

Ding, X., Aoki, V., Mascaró, J.M., Lopez-Swiderski, A., Diaz, L.A., Fairley, J.A. (1997). Mucosal and Mucocutaneous (Generalized) Pemphigus Vulgaris Show Distinct Autoantibody Profiles. *J Invest Dermatol* 109:592-596.

Emery, D.J., Diaz, L.A., Fairley, J.A., Lopez, A., Taylor, A.F., Giudice, G.J. (1995). Pemphigus foliaceus and pemphigus vulgaris autoantibodies react with the extracellular domain of desmoglein-1. *J Invest Dermatol* 104, 323-328.

Eming, R., Hertl, M. (2006). Autoimmune bullous disorders. *Clin Chem Lab Med* 44(2):144–149.

Eming, R., Rech, J., Barth, S., Kalden, J.R., Schuler, G., Harrer, T., Hertl, M. (2006). Prolonged Clinical Remission of Patients with Severe Pemphigus upon Rapid Removal of Desmoglein-Reactive Autoantibodies by Immunoabsorption. *Dermatology* 212:177–187.

Eming, R., Nagel, A., Wolff-Franke, S., Podstawa, Eva, Debus, D., Hertl, M. (2008). Rituximab Exerts a Dual Effect in Pemphigus Vulgaris. *Journal of Investigative Dermatology* 128, 2850–2858.

Enk, A., Hertl, M., Messer, G., Meurer, M., Rentz, E., Zillikens, D. (2003). Einsatz hochdosierter intravenöser Immunglobuline in der Dermatologie. *JDDG* 1:183-190.

Esaki, C., Seishima, M., Yamada, T., Osada, K., Kitajima, Y. (1995). Pharmacologic evidence for involvement of phospholipase C in pemphigus IgG-induced Inositol 1,4,5-Trisphosphate generation, intracellular calcium increase, and plasminogen activator secretion in DJM-1 cells, a squamous cell carcinoma line. *J Invest Dermatol* 105, 329-333.

Eyre, R.W. und Stanley, J.R. (1988). Identification of Pemphigus Vulgaris Antigen Extracted from Normal Human Epidermis and Comparison with Pemphigus Foliaceus Antigen. *The Journal of Clinical Investigation* 81, 807-812.

Feliciani, C., Toto, P., Amerio, P., Pour, S. M., Coscione, G., Shivji, G., Wang, B., und Sauder, D.N. (2000). In vitro and in vivo expression of interleukin-1alpha and tumor necrosis factor-alpha mRNA in pemphigus vulgaris: interleukin-1alpha and tumor necrosis factor-alpha are involved in acantholysis. *J Invest Dermatol* 114, 71-77.

Fredriksson, T., Pettersson, U. (1978). Severe psoriasis -oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica* 157: 238-244.

Futei, Y., Amagai, M., Sekiguchi, M., Nishifuji, K., Fujii, Y., Nishikawa, T. (2000). Use of Domain-Swapped Molecules for Conformational Epitope Mapping of Desmoglein 3 in Pemphigus Vulgaris. *J Invest Dermatol* 115:829-834.

Gemsa, D., Kalden, J.R., und Resch, K. (1997). *Immunologie, Grundlagen-Klinik-Praxis*, Thieme, Stuttgart.

Goebeler, M., Sitaru, C., Zillikens, D. (2004). Bullöse Autoimmundermatosen (II): Therapie. *JDDG* 9: 774-793.

Günther, C., Hertl, M., Meurer, M. (2007). Autoantikörperdiagnostik. *Hautarzt* 58: 1063-1075.

Harman, K.E., Seed, P.T., Gratian, M.J., Bhogal, B.S., Challacombe, S.J., Black, M.M. (2001). The severity of cutaneous and oral pemphigus is related to desmoglein 1 and 3 antibody levels. *Br J Dermatol* 144: 775-80.

Harman, K.E., Gratian, M.J., Shirlaw, P.J., Bhogal, B.S., Challacombe, S.J. (2002). The transition of pemphigus vulgaris into pemphigus foliaceus: a reflection of changing desmoglein 1 and 3 autoantibody levels in pemphigus vulgaris. *British Journal of Dermatology* 146: 684–687.

Harman, K.E., Albert, S., Black, M.M. (2003). Guidelines for the management of pemphigus vulgaris. *British Journal of Dermatology* 149: 926–937.

Hashimoto, T., Amagai, M., Watanabe, K., Dmochowski, M., Chidgey, M.A., Yue, K.K., Garrod, D.R., Nishikawa, T. (1995). A case of pemphigus vulgaris showing reactivity with pemphigus antigens (Dsg1 and Dsg3) and desmocollins. *J Invest Dermatol* 104, 541-544.

Herbst, A., Bystryń, J.C. (2000). Patterns of remission in pemphigus vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 42: 422-7.

Hertl, M., Amagai, M., Sundaram, H., Stanley, J., Ishii, K., und Katz, S.I. (1998a). Recognition of desmoglein 3 by autoreactive T cells in pemphigus vulgaris patients and normals. *J Invest Dermatol* 110, 62-66.

Hertl, M., Karr, R.W., Amagai, M., und Katz, S.I. (1998b). MHC II restriction pattern of autoreactive desmoglein 3 specific T cell responses in pemphigus vulgaris patients and normals. *J Invest Dermatol* 110, 388-392.

Hertl, M. (2000). Humoral and Cellular Autoimmunity in Autoimmune Bullous Skin Disorders. *Int Arch Allergy Immunol* 122:91-100.

Hertl, M., Riechers, R. (2001). Autoreactive T Cells as Potential Targets for Immunotherapy of Autoimmune Bullous Skin Diseases. *Clinics in Dermatology* 19:592–597.

Hertl, M., Veldman, C. (2001). Pemphigus – Paradigm of Autoantibody-Mediated Autoimmunity. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 14:408–418.

Hertl, M., Schuler, G. (2002a). Bullöse Autoimmundermatosen Teil 1: Klassifikation. *Hautarzt* 53:207-221.

Hertl, M., Schuler, G. (2002b). Bullöse Autoimmundermatosen Teil 2: Pathogenese. *Hautarzt* 53:277-285.

Hertl, M., Schuler, G. (2002c). Bullöse Autoimmundermatosen Teil 3: Diagnostik und Therapie. *Hautarzt* 53:352-366.

Hertl, M., Eming, R., Veldman, C. (2006). T cell control in autoimmune bullous skin disorders. *J. Clin. Invest.* 116:1159–1166.

Hofmann, S.C., Kautz, O., Hertl, M., Sticherling, M., Zillikens, D., Bruckner-Tuderman, L. (2009). Results of a survey of German dermatologists on the therapeutic approaches to pemphigus and bullous pemphigoid. *JDDG* 7:227–233.

Huber, O.(2003). Review Structure and function of desmosomal proteins and their role in development and disease. CMLS, Cell. Mol. Life Sci. 60 1872–1890.

Ishii, K., Amagai, M., Hall, R.P., Hashimoto, T., Takayanagi, A., Gamou, S., Shimizu, N., Nishikawa, T. (1997) Characterization of autoantibodies in pemphigus using antigen-specific enzyme-linked immunosorbent assays with baculovirus-expressed recombinant desmogleins. J Immunol 159: 2010-7.

Ishii, K., Amagai, M., Ohata, Y., Shimizu, H., Hashimoto, T., Ohya, K., Nishikawa, T. (2000). Development of pemphigus vulgaris in a patient with pemphigus foliaceus: Antidesmoglein antibody profile shift confirmed by enzyme-linked immunosorbent assay. J Am Acad Dermatol 42:859-61.

Ishii, K., Harada, R., Matsuo, I., Shirakata, Y., Hashimoto, K., Amagai, M. (2005). In Vitro Keratinocyte Dissociation Assay for Evaluation of the Pathogenicity of Anti-Desmoglein 3 IgG Autoantibodies in Pemphigus Vulgaris. J Invest Dermatol 124:939–946.

Iwatsuki, K., Takigawa, M., Hashimoto, T., Nishikawa, T., Yamada, M. (1991). Can pemphigus vulgaris become pemphigus foliaceus? J Am Acad Dermatol 1991;25:797-800.

Jainta, S., Schmidt, E., Bröcker, E.B., Zillikens, D. (2001). Diagnostik und Therapie bullöser Autoimmunerkrankungen der Haut. Dt Ärztebl 98: A 1320–1325 [Heft 20].

Janeway, C.A., Travers. P., Walport, M., und Shlomchil, M. (2002). Immunologie. 5. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin.

Jolles, S. (2001). A review of high-dose intravenous immunoglobulin (hdIVIg) in the treatment of the autoimmune blistering disorders. Clinical and Experimental Dermatology 26: 127-131.

Joly, P., Mouquet, H., Roujeau, J.-C., D’Incan, M., Gilbert, D., Jacquot, S., Gougeon, M.-L., Bedane, C., Muller, R., Dreno, B., Doutre, M.-S., Delaporte, E., Pauwels, C., Franck, N., Caux, F., Picard, C., Tancrede-Bohin, E., Bernard, P., Tron, F., Hertl, M., Musette, P. (2007). A Single Cycle of Rituximab for the Treatment of Severe Pemphigus. N Engl J Med 357:545-52.

Jung, E.G. und Moll, I. (2003). Dermatologie. 5.Auflage. Thieme, Stuttgart.

Junqueira, L.C.U., Carneiro, J. und Gratzl M. (Hrsg.) (2005). Histologie. 6.Auflage. Springer, Heidelberg.

Karpati, S., Amagai, M., Prussick, R., Cehrs, K., und Stanley, J.R. (1993). Pemphigus vulgaris antigen, a desmoglein type of cadherin, is localized within keratinocyte desmosomes. J Cell Biol 122, 409-415.

Kljuic, A., Bazzi, H., Sundberg, J. P., Martinez-Mir, A., O'Shaughnessy, R., Mahoney, M.G., Levy, M., Montagutelli, X., Ahmad, W., Aita, V.M., Gordon, D., Uitto, J., Whiting, D., Ott, J., Fischer, S., Gilliam, T.C., Jahoda, C.A.B., Morris, R.J., Panteleyev, Nguyen, V.T., Christiano, A.M. (2003). Desmoglein 4 in hair follicle differentiation and epidermal adhesion: evidence from inherited hypotrichosis and acquired pemphigus vulgaris. *Cell* 113, 249-260.

Kreienbrock, L., Schach, S. (1997). *Epidemiologische Methoden* 2. Auflage. Gustav Fischer, Stuttgart.

Kumar, B., Arora, S., Kumaran, M., Jain, R., Dogra, S. (2006). Study of desmoglein 1 and 3 antibody levels in relation to disease severity in Indian patients with pemphigus. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology* Vol.72, No 3: 203-206.

Kunte, C., Barbosa, J.M., Wolff, H., Meurer, M. (1997). Brasilianischer Pemphigus foliaceus (Fogo selvagem). *Hautarzt* 48:228–233.

Kwon, E.J., Yamagami, J., Nishikawa, T., Amagai, M. (2008). Anti-desmoglein IgG autoantibodies in patients with pemphigus in remission. *JEADV*, 22, 1070–1075.

Lin, M.S., Swartz, S.J., Lopez, A., Ding, X., Fairley, J.A., Diaz, L.A. (1997a). T-Lymphocytes from a subset of patients with pemphigus vulgaris respond to both desmoglein-3 and desmoglein-1. *J Invest dermatol* 109:734-737.

Lin, M.S., Swartz, S.J., Lopez, A., Ding, X., Fernandez-Vina, M.A., Stastny, P., Fairley, J.A., und Diaz, L.A. (1997b). Development and characterization of desmoglein- 3 specific T cells from patients with pemphigus vulgaris. *J Clin Invest* 99, 31-40.

Lombardi, C., Borges, P.C., Chaul, A., Sampaio, S.A.P., Rivitti, E.A., Friedman, H., Martins, C.R., Sanches, J.A., Cunha, P.R., Hoffmann, R.G., Diaz, L.A., "The Cooperative Group on Fogo Selvagem Research" (1992). Environmental risk factors in endemic pemphigus foliaceus (fogo selvagem). *J Invest Dermatol* 98: 847–850.

Mahajan, V.K., Sharma, N.L., Sharma, R.C., Garg, G. (2005). Twelve-year clinico-therapeutic experience in pemphigus: a retrospective study of 54 cases. *Int J Dermatol* 44: 821-7.

Mahoney, M.G., Wang, Z., Rothenberger, K., Koch, P.J., Amagai, M., Stanley, J.R. (1999). Explanations for the clinical and microscopic localization of lesions in pemphigus foliaceus and vulgaris. *J Clin Invest* 103:461-468.

Merlob, P., Metzker, A., Hazaz, B., Rogovin, H., Reisner, S.H. (1986). Neonatal Pemphigus Vulgaris. *Pediatrics* 78;1102-1105.

Miyagawa, S., Amagai, M., Iida, T., Yamamoto, Y., Nishikawa, T., Shirai, T. (1999). Late development of antidesmoglein 1 antibodies in pemphigus vulgaris: correlation with disease progression. *British Journal of Dermatology* 141: 1084-1087.

Moll, R., Bahn, H., Bayerl, C., Moll, I. (1996). Zelluläre Adhäsionsmoleküle und Komponenten der extrazellulären Matrix als Zielstrukturen der Autoimmunität. *Pathologe* 17: 254-261.

Moraes, J.R., Moraes, M.E., Fernandez-Vina, M., Diaz, L.A., Friedman, H., Campbell, I.T., Alvarez, R.R., Sampaio, S.A.P., Rivitti, E.A., Stastny, P. (1991). HLA antigens and risk for development of pemphigus foliaceus (fogo selvagem) in endemic areas of Brazil. *Immunogenetics* 33: 388-391.

Moraes, M.E., Fernandez-Vina, M., Lazaro, A., Diaz, L.A. Filho, G.H., Friedman, H., Rivitti, E., Aoki, V., Stastny, P., Moraes, J.R. (1997). An epitope in the third hypervariable region of the DRB1 gene is involved in the susceptibility to endemic pemphigus foliaceus (fogo selvagem) in three different Brazilian populations. *Tissue Antigens*. 49:35–40.

Morini, J.P., Jomaa, B., Gorgi, Y., Saguem, M.H., Nourira, R. Roujeau, J.C., Revuz, J. (1993). Pemphigus foliaceus in young women. An endemic focus in the Sousse area of Tunisia. *Arch Dermatol* 129: 69-73.

Müller, R., Svoboda, V., Wenzel, E., Gebert, S., Hunzelmann, N., Müller, H.-H., Hertl, M. (2006). IgG reactivity against non-conformational NH2-terminal epitopes of the desmoglein 3 ectodomain relates to clinical activity and phenotype of pemphigus vulgaris. *Experimental Dermatology* 15: 606–614.

Müller, R., Svoboda, V., Wenzel, E., Müller, H.-H., Hertl, M. (2008). IgG against extracellular subdomains of desmoglein 3 relates to clinical phenotype of pemphigus vulgaris. *Experimental Dermatology* 17: 35–43.

Murrell, D.F., Dick, S., Ahmed, A.R., Amagai, M., Barnadas, M.A., Borradori, L., Bystryrn, J.C., Cianchini, G., Diaz, L., Fivenson, D., Hall, R., Harman, K.E., Hashimoto, T., Hertl, M., Hunzelmann, N., Iranzo, P., Joly, P., Jonkman, M.F., Kitajima, Y., Korman, N.J., Martin, L.K., Mimouni, D., Pandya, A.G., Payne, A.S., Rubenstein, D., Shimizu, H., Sinha, A.A., Sirois, D., Zillikens, D., Werth, V.P. (2008). Consensus statement on definitions of disease, end points, and therapeutic response for pemphigus. *J Am Acad Dermatol* 58:1043-6.

Nagel, A., Podstawa, E., Eickmann, M., Müller, H.-H., Hertl, M., Eming, R. (2009). Rituximab Mediates a Strong Elevation of B-Cell-Activating Factor Associated with Increased Pathogen-Specific IgG but Not Autoantibodies in Pemphigus Vulgaris. *J Invest Dermatol* 129 (9): 2202-10.

Nguyen, V.T., Ndoeye, A., Grando, S.A. (2000a). Pemphigus Vulgaris Antibody Identifies Pemphaxin A novel keratinocyte Annexin-like molecule binding acetylcholine. *J Biol Chem* 275: 29466–29476.

Nguyen, V.T., Ndoeye, A., Grando, S.A. (2000b). Novel Human $\alpha 9$ Acetylcholine Receptor Regulating Keratinocyte Adhesion is Targeted by Pemphigus Vulgaris Autoimmunity. *Am J Pathol* 157:1377–1391.

Oranje, A.P., Stalder, J.-F., Taïeb, A., Tasset, C., de Longueville, M. (1997). Scoring of atopic dermatitis by SCORAD using a training atlas by investigators from different disciplines *Pediatr Allergy Immunol* 8: 28-34.

Pfütze, M., Niedermeier, A., Hertl, M., Eming, R. (2007). Introducing a new Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score (ABSIS) in pemphigus. *Eur J Dermatol* 17 (1): 4-11.

Pfütze, M., Eming, R., Kneisel, A., Kuhlmann, U., Hoyer, J., Hertl, M. (2009). Clinical and Immunological Follow-Up of Pemphigus Patients on Adjuvant Treatment with Immunoadsorption or Rituximab. *Dermatology* 218:237–245.

Rassner, G. (2007). *Dermatologie Lehrbuch und Atlas*. 8.Auflage. Elsevier Urban und Fischer, München.

Rock, B., Martins, C.R., Theofilopoulos, A.N., Balderas, R.S., Anhalt, G.J., Labib, R.S., Futamura, S., Rivitti, E.A., Diaz, L.A. (1989). The pathogenic effect of IgG4 autoantibodies in endemic pemphigus foliaceus (fogo selvagem). *N. Engl. J. Med.* 320:1463–1469.

Roscoe, J.T., Diaz, L.A., Sampaio, S.A., Castro, R.M., Labib, R.S., Takahashi, Y., Patel, H., Anhalt, G.J. (1985). Brazilian pemphigus foliaceus auto-antibodies are pathogenic to BALB/c mice by passive transfer. *J Invest Dermatol* 85: 538–541.

Rose, E., Kasperkiewicz, M., Rose, C., Zillikens, D. (2007). Bullöse Autoimmundermatosen, Neues zur Diagnostik und Therapie. *Der Deutsche Dermatologe* 9: 617-62.

Rosenbach, M., Murrell, D.F., Bystry, J.-C., Dulay, S., Dick, S., Fakharzadeh, S., Hall, R., Korman, N.J., Lin, J., Okawa, J., Pandya, A.G., Payne, A.S., Rose, M., Rubenstein, D., Woodley, D., Vittorio, C., Werth, B.B., Erik A. Williams, E.A., Taylor, L., Troxel, A.B., Werth, V.P. (2009). Reliability and Convergent Validity of Two Outcome Instruments for Pemphigus. *J Invest Dermatol* 129 (10):2404-10.

Salato, V.K., Hacker-Foegen, M.K., Lazarova, Z., Fairley, J.A., Lin, M.-S. (2005). Role of intramolecular epitope spreading in pemphigus vulgaris. *Clinical Immunology* 116: 54 – 64.

Sams, W.M., Jordon, R.E. (1971). Correlation of pemphigoid and pemphigus antibody titres with activity of disease. *Br J Der* 84, 7-13.

Saraswat, A., Kumar, B. (2003). A new grading system for oral pemphigus. *Int J Dermatol* 42: 413-4.

Schmidt, E., Klinker, E., Opitz, A., Herzog, S., Sitaru, C., Goebeler, M., Mansouri Taleghoni, B., Bröcker, E.-B., Zillikens, D. (2003). Therapeutics Protein A immunoabsorption: a novel and effective adjuvant treatment of severe pemphigus. *British Journal of Dermatology* 148: 1222–1229.

Schmidt, E., Hunzelmann, N., Zillikens, D., Bröcker, E.-B., Goebeler, M. (2006). Rituximab in refractory autoimmune bullous diseases. *Clinical and Experimental Dermatology*, 31, 503–508.

Seishima, M., Esaki, C., Osada, K., Mori, S., Hashimoto, T., Kitajima, Y. (1995). Pemphigus IgG, but not bullous pemphigoid IgG, causes a transient increase in intracellular calcium and inositol 1,4,5-triphosphate in DJM-1 cells, a squamous cell carcinoma line. *J Invest Dermatol* 104, 33-37.

Sekiguchi, M., Futei, Y., Fujii, Y., Iwasaki, T., Nishikawa, T., Amagai, M. (2001). Dominant autoimmune epitopes recognized by pemphigus antibodies map to the N-terminal adhesive region of desmogleins. *J Immunol* 167, 5439- 5448.

Shimanovich, I., Herzog, S., Schmidt, E., Opitz, A., Klinker, E., Bröcker, E.-B., Goebeler, M., Zillikens, D. (2006). Improved protocol for treatment of pemphigus vulgaris with protein A immunoabsorption. *Clinical and Experimental Dermatology*, 31, 768–774.

Shirakata, Y., Amagai, M., Hanakawa, Y., Nishikawa, T., Hashimoto, K. (1998). Lack of mucosal involvement in pemphigus foliaceus may be due to low expression of desmoglein 1. *J. Invest. Dermatol.* 110:76–78.

Sitaru, C., Goebeler, M., Zillikens, D. (2004). Bullöse Autoimmundermatosen (I): Pathogenese und Diagnostik. *JDDG* 2: 123-139.

Spaeth, S., Riechers, R., Borradori, L., Zillikens, D., Büdinger, L., Hertl, M. (2001). IgG, IgA and IgE autoantibodies against the ectodomain of desmoglein 3 in active pemphigus vulgaris. *British Journal of Dermatology* 144: 1183-1188.

Tiling-Grosse, S., Rees, I. (1993). Assessment of area of involvement in skin disease: a study using schematic figure outlines. *British Journal of Dermatology* 128, 69 – 74.

Torzecka, J.D., Wosniak, K., Kowalewski, C., Waszczykowska, E., Sysa-Jedrzejowska, A., Pas, H.H., Narbutt, J. (2007). Circulating pemphigus autoantibodies in healthy relatives of pemphigus patients: coincidental phenomenon with a risk of disease development? *Arch Dermatol Res* 299:239–243.

Tsunoda, K., Ota, T., Aoki, M., Yamada, T., Nagai, T., Nakagawa, T., Koyasu, S., Nishikawa, T., Amagai, M. (2003). Induction of pemphigus phenotype by a mouse monoclonal antibody against the amino-terminal adhesive interface of desmoglein 3. *J Immunol* 170, 2170-2178.

Vanderlugt, C.J., Stephen, D, Miller, S.D. (1996). Epitope spreading. *Current Opinion in Immunology* 8:831-836.

Veldman, C., Stauber, A., Wassmuth, R., Uter, W., Schuler, G., Hertl, M. (2003). Dichotomy of Autoreactive Th1 and Th2 Cell Responses to Desmoglein 3 in Patients with Pemphigus Vulgaris (PV) and Healthy Carriers of PV-Associated HLA Class II Alleles. *J Immunol* 170: 635–642.

Veldman, C.M., Gebhard, K.L., Uter, W., Wassmuth, R., Grotzinger, J., Schultz, E., und Hertl, M. (2004a). T cell recognition of desmoglein 3 peptides in patients with pemphigus vulgaris and healthy individuals. *J Immunol* 172, 3883-3892.

Veldman, C., Hohne, A., Dieckmann, D., Schuler, G., und Hertl, M. (2004b). Type I regulatory T cells specific for desmoglein 3 are more frequently detected in healthy individuals than in patients with pemphigus vulgaris. *J Immunol* 172, 6468-6475.

Vollmar, A., Dingermann, T. (2005). *Immunologie Grundlagen und Wirkstoffe*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH. Stuttgart.

Welsch, U. (2006). *Lehrbuch Histologie*. 2. Auflage. Elsevier Urban und Fischer, München.

Wucherpfennig, K.W., Yu, B., Bhol, K., Monos, D.S., Argry, E., W. Karr, R.W. Ahmed, A.R., Strominger, J.L. (1995). Structural basis for major histocompatibility complex (MHC)-linked susceptibility to autoimmunity: Charged residues of a single MHC binding pocket confer selective presentation of self-peptides in pemphigus vulgaris. *Proc Natl Acad Sci USA* 92, 11935-11939.

Yeh, S.W., Cavacini, L.A., Bhol, K.C., Lin, M.S., Kumar, M., Duval, M., Posner, M.R., Ahmed, A.R. (2006). Pathogenic human monoclonal antibody against desmoglein 3. *Clinical Immunology* 120:68-75.

Zillikens, D., Derfler, K., Eming, R., Fierlbeck, G., Goebeler, M., Hertl, M., Hofmann, S.C., Karlhofer, F., Kautz, O., Nitschke, M., Opitz, A., Quist, S., Rose, C., Schanz, S., Schmidt, E., Shimanovich, I., Sticherling, M., Ziller, F. (2007). Empfehlungen für die Anwendung der Immunapherese bei der Therapie bullöser Autoimmundermatosen. *JDDG* 5:881–888.

Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren die Damen und Herren

in Marburg:

Albert, Arnold, Aumüller, Barth, Bartsch, Basler, Baum, Baumann, Becker, Berger, Bien, Bolm, Cetin, Christiansen Czubayko, Daut, , Dietrich, Dodel, Dünne, Duda, Eilers, Eming, Feuser, Funck, Gerdes, Görg, Grau, Gress, Grimm, Gudermann, Happle, Hassan, Hermann-Lingen, Hertl, Höffken, Hörle, Horn, Hoyer, Jungclas, Kalinowski, Kann, Kalder, Keller, Kill, Klose, König, Koolmann, Krieg, Kroll, Kühnert, Kuhlmann, Leonhardt, Lill, Löffler, Lohoff, Maier, Maisch, Mayer, Moosdorf, Moll, Mueller, Müller, Neubauer, Oertel, Olbert, Plant, Rausch, Remschmidt, Renz, Richter, Röhm, Röper, Rothmund, Schäfer, Schmidt, Schnabel, Schrader, Seitz, Sekundo, Steiniger, Sundermeyer, Vogelmeier, Wagner, Weihe, Wennemuth, Werner, Westermann, Wulf.

In Bad Wildungen:

Jonas, Rommelfanger

In Biel (Schweiz):

Donati, Pihan

Danksagung

Ich möchte mich bei allen bedanken, die mich während dieser Promotionsarbeit unterstützt haben.

Mein Dank gilt besonders:

Herrn Prof. Dr. Hertl für die Überlassung des Themas, seine Unterstützung während der Promotion und für die Übernahme des Erstgutachtens.

Herrn Dr. Rüdiger Eming für die ständige Betreuung und Unterstützung während der Aufnahme der Daten und der Niederschrift der Dissertation. Vielen Dank dafür!

Frau Dr. Angela Nagel für die „statistischen Erklärungen“.

Herrn Dr. Pfütze und Frau Dr. Niedermeier, sowie allen Mitarbeitern der dermatologischen Poliklinik für die Hilfe bei der Datenaufnahme.

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel „*Evaluierung der Krankheitsaktivität von Pemphigus-Patienten mittels des Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Scores*“ in der Klinik für Dermatologie und Allergologie unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Hertl mit Unterstützung von Dr. Eming ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als in der Dissertation aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keinem in- oder ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit zur Dissertation vorgelegt.

Vorliegende Arbeit wurde in folgenden Publikationsorganen veröffentlicht:

„Evaluation of disease activity in pemphigus patients by the Autoimmune Bullous Skin Disorder Intensity Score (ABSIS)“ in *Experimental Dermatology*, 17, 242-290 (Abstract).

Köln, 3.11.2009